

## ВОЗРАСТНЫЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИОЭНДОКРИННЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА У КРЫС В НОРМЕ И ПРИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

© 2013 г. И. М. Коростышевская, В. Ф. Максимов

*НИИ физиологии СО РАМН,*

*630117 Новосибирск, ул. Тимакова, д. 4*

*E-mail: kor@physiol.ru*

Поступила в редакцию 11.05.12 г.

Окончательный вариант получен 01.11.12 г.

Проведено качественное и количественное ультраструктурное исследование кардиомиоцитов правого предсердия у крыс линии ВАГ (контроль) и линии НИСАГ (с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией) в разном возрасте: 18-е сутки эмбриогенеза, 12-е и 21-е сутки после рождения, на 6-м и 13-м месяцах жизни. Показано, что у эмбрионов на фоне незавершенного морфогенеза предсердий в миоэндокринных клетках уже активно формируются, накапливаются и растворяются секреторные гранулы, содержащие натрийуретические пептиды. По ходу постнатального онтогенеза в клетках предсердий происходит накопление секреторного продукта. На всех изученных этапах онтогенеза у крыс гипертензивной линии в миоэндокринных клетках численная плотность гранул выше и качественный состав их более разнообразный, чем в контроле. Установлено, что в предсердных миоцитах крыс линии НИСАГ морфологические признаки гиперсекреции натрийуретических пептидов предшествуют генетически запрограммированному повышению артериального давления. У взрослых гипертензивных крыс гипертрофические и дегенеративные изменения миоцитов сочетаются с избыточным накоплением секреторных гранул, часть которых подвергается внутриклеточной деградации.

*Ключевые слова:* натрийуретические пептиды, правое предсердие, кардиомиоцит, онтогенез, крыса.

DOI: 10.7868/S0475145013020043

Сердце как центральный орган гемодинамики изучается всеми доступными средствами со времен Гарвея уже более трех веков. Естественно, что экспериментаторы и клиницисты всегда концентрировали свое внимание на структуре, функциях и патологии самых гемодинамически нагруженных отделов – желудочках, а правым предсердием традиционно интересовались электрофизиологи и аритмологи. Интерес научного сообщества к особенностям строения и функциям предсердных миоцитов оживился 30 лет назад, когда было обнаружено, что в их секреторных гранулах синтезируются и накапливаются биологически активные пептиды, обладающие выраженным натрийуретическим, диуретическим и гипотензивным действием (de Bold et al., 1981). Пик исследований гормональной активности сердца пришелся на 90-е годы прошлого столетия, когда в модельных экспериментах и клинической практике преимущественно иммуно- и биохимиче-

скими методами были получены фундаментальные сведения об этом регуляторном звене, антагонистичном прессорным системам. Все достижения новейших молекулярных, генетических и иммунологических технологий, представляя ценную информацию по нокаутным линиям животных, по молекулярной структуре пептидов и их рецепторов, по фармакокинетике в норме и патологии, остаются неполными без соответствующего морфологического контроля и привязки к определенным структурам. Морфологические исследования требуют применения электронной микроскопии, поскольку диаметр секреторных гранул в мышечных клетках предсердий не превышает 500 нм. Морфологических исследований натрийуретической системы сердца на этапах онтогенеза практически нет, а имеющиеся молекулярно-генетические и биохимические данные очень разрозненные (Deloof et al., 1995; Cameron, Ellmers, 2003; Zhang, Pasumarthi,

2007). Достижения и проблемы современного состояния знаний о натрийуретических пептидах сердца и их взаимодействий с известными вазоконстрикторными гормональными системами регуляции гемодинамики обобщены в авторских обзорах (Максимов, Коростышевская, 2011; Коростышевская, Максимов, 2012).

Растяжение предсердия повышенным давлением и/или объемом крови – сильнейший специфический стимул для выделения накопленных натрийуретических пептидов из миоцитов и синтеза их *de novo*. Установлено, что у взрослых крыс в любой модели артериальной гипертензии (спонтанная, вазоренальная, при солевой нагрузке и аорто-кавальных анастомозах и др.) экспрессия генов натрийуретических пептидов в сердце и концентрация гормонов в крови повышены (Avramovitch et al., 1995; de Bold et al., 1996; Nakayama, 2005; Рахчеева, Бугрова, 2010). Интерес к проблеме поддерживается тем, что и у больных с эссенциальной или вторичной гипертензией, застойной сердечной недостаточностью, ишемической болезнью сердца, хронической почечной недостаточностью, а также при других сердечно-сосудистых и гемодинамических нарушениях концентрация сердечных натрийуретических пептидов в плазме крови также значительно повышена (Wopow, 1996; Kawakami et al., 1996). Почему у таких больных с высоким артериальным давлением и отеками натрийуретические пептиды избыточны, но неэффективны? Этот гормональный парадокс ждет своего объяснения (Vesely, 2001, 2006, 2007). Является ли гиперсекреция компенсаторной реакцией на нарушение гемодинамики, когда и как начинают реагировать предсердные миоциты на гемодинамические нарушения или другие стимулы – остается совершенно неизвестным. Для решения этих проблем необходимы исследования на ранних стадиях онтогенеза с использованием адекватных экспериментальных моделей.

Цель исследования – описать ультраструктурные особенности становления и функционирования предсердных миоцитов на ключевых этапах онтогенеза у крыс в норме и при наследственной гипертензии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Крыс линии ВАГ (нормотензивный контроль) и гипертензивной линии НИСАГ содержали в стандартных условиях вивария с водой и пищей без ограничения. Линия крыс НИСАГ с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией как модель эссенциальной ги-

пертонии была получена в Институте цитологии и генетики СО РАН путем селекции на основе аутбредной линии Вистар (Маркель, 1985). Морфологические признаки гипертрофии левого желудочка появляются в возрасте с 3-й по 5-ю недели постнатальной жизни (Шмерлинг и др., 1997), когда генетически закрепленная гиперчувствительность к стрессу проявляется в стойком повышении артериального давления (Маслова и др., 1996).

Ультраструктуру миокарда правого предсердия изучали на 5 стадиях онтогенеза: у эмбрионов на 18-е сутки развития, у крысят в период молочного вскармливания на 12-е и 21-е сутки жизни, у самцов на 6-м и 13-м месяцах жизни (5–6 животных в каждой группе). У половозрелых животных измеряли систолическое базальное артериальное давление сфигмографическим методом на хвосте (tail-cuff method) на фоне кратковременного эфирного рауш-наркоза, что позволило избежать влияния психического стресса, связанного с процедурой измерения. Животных умерщвляли под эфирным наркозом гильотинированием согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» и директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС). Определяли массу тела и сердца.

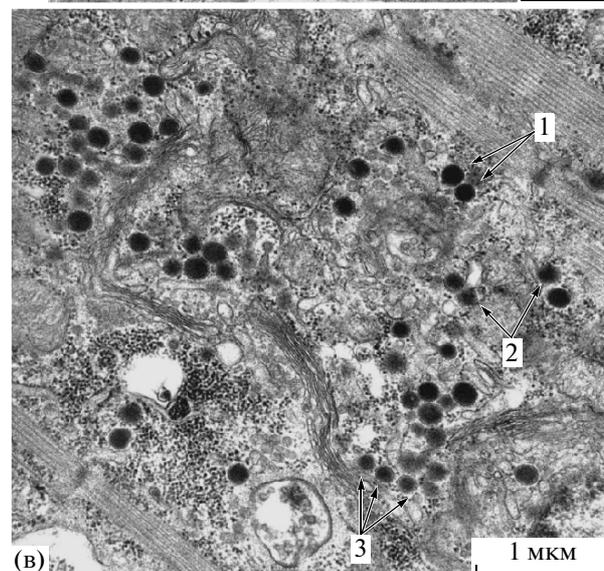
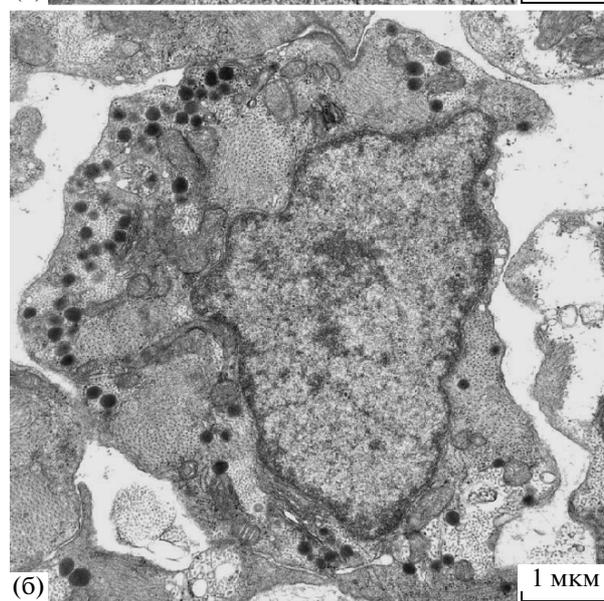
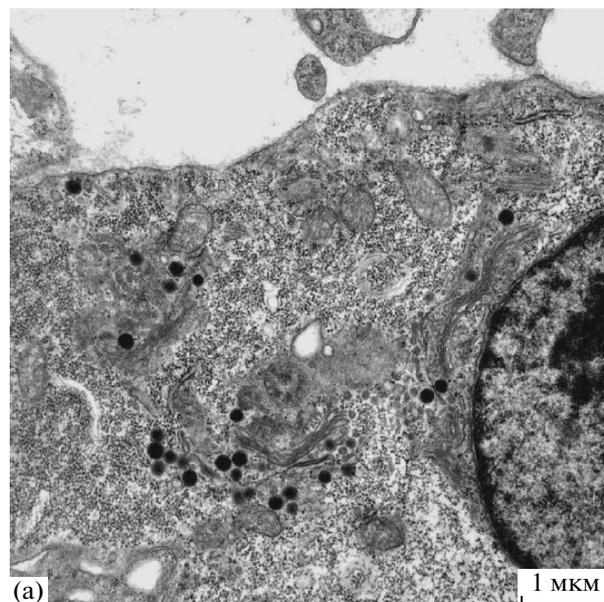
Для электронно-микроскопического исследования ушко правого предсердия (у эмбрионов – целиком предсердие) фиксировали в растворе 2.5% глутарового альдегида и 2% параформа, дофиксировали в 1.5% растворе OsO<sub>4</sub>, заливали в смесь эпона с аралдитом. Ультратонкие продольные срезы миокарда контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM-1400 (Jeol, Япония), фотографировали камерой Veleta 4 Mpx (Olympus, Япония). В пакете iTEM 5.1 (Olympus, Япония) измеряли размеры кардиомиоцитов в области ядра и диаметры секреторных гранул в них. Не менее чем на 15 случайных полях зрения каждого образца при увеличении ×10000 с помощью квадратной тестовой решетки с шагом 1 мкм определяли относительные объемы органоидов в цитоплазме кардиомиоцитов, подсчитывали численную плотность секреторных гранул. Статистическую обработку вариационных рядов и проверку их на нормальность распределения проводили в пакете Statistica 6.0. Результаты представлены в виде среднего и ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Достоверность различий с контролем определяли *t* критерием Стьюдента для  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

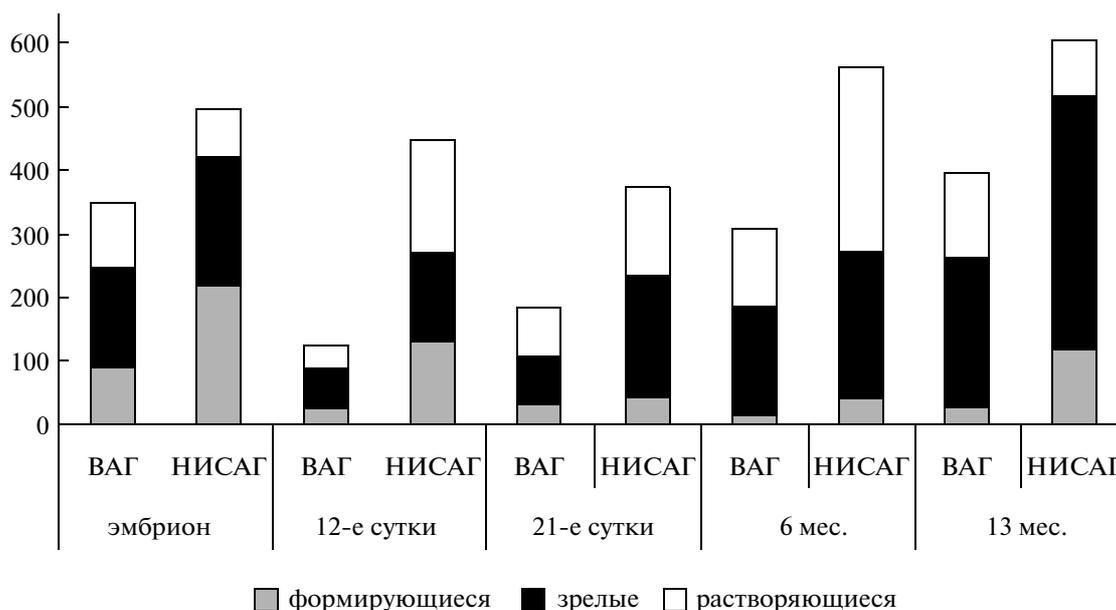
*Характеристика предсердных миоцитов на ранних этапах онтогенеза*

**18-е сутки эмбриогенеза.** У эмбрионов крыс линии ВАГ за три дня до рождения миокард правого предсердия настолько тонкий, что иногда представлен лишь 2–3-мя рыхлыми слоями мышечных клеток на разных стадиях дифференцировки. В более дифференцированных кардиомиоцитах вдоль длинной оси располагаются 1–2 пучка миофибрилл с четкими саркомерами. Значительная часть цитоплазмы заполнена скоплениями пылевидного гликогена с локусами резорбции. На срезах обнаруживается достаточно много митохондрий, встречаются фрагменты шероховатой сети, часто попадает центриоль. Около полюсов ядра располагаются 2–3 пластинчатых комплекса из уплощенных цистерн. Секреторные гранулы со средним диаметром 180 нм, содержащие натрий-уретические пептиды, группируются преимущественно в околоядерной зоне (рис. 1а). Если гранул в клетке много, то они встречаются и в зоне миофибрилл, и под сарколеммой. Ультраструктурные морфометрические параметры таких предсердных миоэндокринных клеток представлены в табл. 1. В малодифференцированных клетках секреторных гранул или нет совсем или они единичные и очень мелкие.

Секреторные гранулы представляют собой на срезах строго округлые тельца с электронноплотной сердцевиной, окруженной одинарной мембраной. Такие гранулы обозначали как “зрелые” формы. Если края гранул на срезе выглядели размытыми и неровными, сердцевины – неравномерной и сниженной плотности без четкой ограничительной мембраны, то их относили к растворяющимся формам. Электронно-плотное вещество без четких границ в расширенных цистернах пластинчатого комплекса рассматривали как формирующиеся гранулы (рис. 1в). При подсчетах в эту группу относили также мелкие гранулы с четким светлым ободком под мембраной, располагающиеся в зоне Гольджи. Такая классификация оказалась достаточно информативной и успешно используется в морфологических исследованиях (Avramovitch et al., 1995; Azizov, Muradova, 2003; Tilkova et al., 2008; Рахчеева, Бугрова, 2010 и др.).



**Рис. 1.** Хорошо развитые пластинчатые комплексы и разнообразные секреторные гранулы в дифференцирующихся миоэндокринных клетках правого предсердия у 18-суточных эмбрионов крыс линий ВАГ (а, в) и НИСАГ (б). Разновидности гранул: 1 – зрелые, 2 – растворяющиеся, 3 – формирующиеся. Электронограммы. Масштаб 1 мкм.



**Рис. 2.** Динамика численной плотности (на 1000 мкм<sup>2</sup>) и состава секреторных гранул в кардиомиоцитах правого предсердия в онтогенезе у крыс линий ВАГ и НИСАГ.

Анализ гранулярного пула в клетках предсердия эмбрионов линии ВАГ показал, что около половины их – это зрелые формы, а остальные составляют приблизительно поровну формирующиеся и растворяющиеся формы (рис. 2).

Эмбрионы крыс линии НИСАГ на том же сроке беременности отстают в росте. Их масса тела в два раза меньше, чем в контроле, причем это не связано с количеством плодов у конкретной самки. Самые яркие качественные и статистически достоверные количественные различия в композиции миоэндокринных клеток у эмбрионов гипертензивной линии по сравнению с контролем касаются их секреторного аппарата (табл. 1). На продольных срезах клеток около ядра можно насчитать до 5–7 пластинчатых комплексов, формирующих обширную секреторную зону в два раза большую по относительному объему, чем у эмбрионов ВАГ. Цистерны Гольджи неравномерно расширены, в них располагается рыхлое вещество и более плотные скопления – формирующиеся гранулы. Множество разнообразных пузырьков и вакуолей, фрагменты шероховатой сети, обилие свободных рибосом и полисом дополняют картину активных синтетических процессов. Хотя количество секреторных гранул сильно варьирует в соседних клетках, в среднем их в полтора раза больше, чем в контроле, они располагаются по всей цитоплазме мышечных клеток и даже скапливаются между миофибриллами и под сарколеммой (рис. 1б). По размеру они достоверно

мельче, чем у эмбрионов ВАГ, но суммарно занимают в клетке такой же относительный объем (табл. 1). При анализе качественного состава гранул обнаруживается, что преобладают формирующиеся и зрелые формы, а растворяющихся гранул относительно мало (рис. 2).

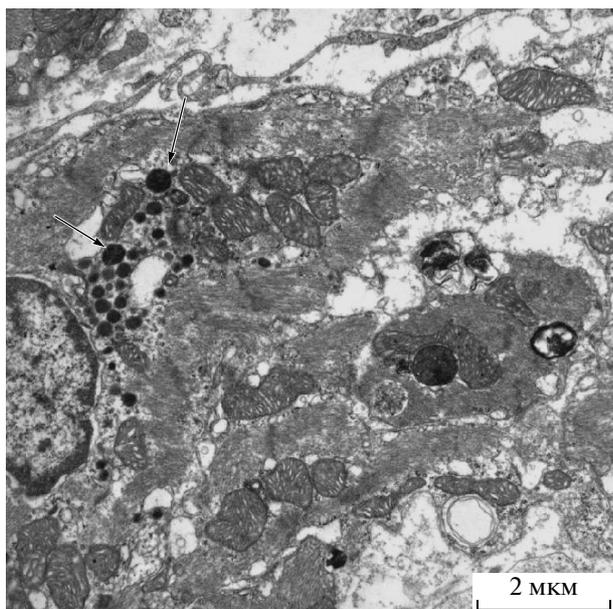
Можно заключить, что у эмбрионов крыс в миокарде предсердий еще до полной дифференцировки клеток происходит активный синтез, накопление и выделение секреторного продукта – натрийуретических пептидов. О функциональной реактивности этой системы свидетельствует то, что на тех же стадиях дифференцировки в миоцитах крыс гипертензивной линии НИСАГ накапливается больше секреторных гранул, чем в контроле. Состав гранул свидетельствует о более активном синтезе и очень быстром выделении секреторного продукта, то есть о повышенной потребности организма эмбриона в регуляторных пептидах.

**12-е сутки постнатальной жизни.** На этом этапе онтогенеза крысята находятся строго на молочном вскармливании, они еще слепые, но уже обрастают шерстью. Исследование показало, что миокард предсердия крысят линии ВАГ представлен тонкими пластами мышечных клеток, достаточно плотно сцепленных друг с другом. Хотя средний диаметр клеток в зоне ядра (около 6 мкм) не меняется с конца эмбриогенеза, объем цитоплазмы значительно увеличивается за счет изменения формы клеток: клетки сильно вытянуты в

Таблица 1. Параметры кардиомиоцитов правого предсердия крысят линий ВАГ и НИСАГ на ранних этапах онтогенеза

Параметр	Эмбрион 18-е сутки		12-е сутки жизни		21-е сутки жизни	
	ВАГ (6)	НИСАГ (6)	ВАГ (6)	НИСАГ (6)	ВАГ (6)	НИСАГ (5)
Масса тела, г	2.7 ± 0.11	1.2 ± 0.03*	20.9 ± 0.90	16.2 ± 0.90*	28.4 ± 0.78	34.6 ± 0.76*
Масса сердца, мг	—	—	109.2 ± 9.9	125.0 ± 9.6	141.7 ± 5.58	191.7 ± 4.77*
Масса сердца/тела, мг/г	—	—	5.2 ± 0.33	7.7 ± 0.38*	5.0 ± 0.24	5.5 ± 0.03
Диаметр клеток, мкм	6.0 ± 0.09 (195)	5.9 ± 0.07 (195)	6.0 ± 0.09 (269)	7.3 ± 0.1* (277)	6.0 ± 0.10 (216)	7.4 ± 0.15* (178)
Относительный объем, %	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(61)
Миофибриллы	37.5 ± 0.64	36.1 ± 0.6	47.9 ± 0.38	47.1 ± 0.62	51.2 ± 0.41	50.9 ± 0.42
Митохондрии	19.3 ± 0.54	16.7 ± 0.58*	36.8 ± 0.4	35.5 ± 0.64	39.5 ± 0.42	35.9 ± 0.56*
Гликоген	23 ± 0.79	22 ± 0.9	4.5 ± 0.17	3.0 ± 0.17*	1.5 ± 0.15	1.5 ± 0.14
Комплекс Гольджи	2.9 ± 0.21	6.0 ± 0.31*	1.7 ± 0.22	3.7 ± 0.28*	1.7 ± 0.14	3.7 ± 0.21*
Гранулы	1.9 ± 0.17	2.0 ± 0.16	1.1 ± 0.13	2.8 ± 0.2*	1.3 ± 0.11	3.3 ± 0.19*
Другие органоиды	15.8 ± 0.54	17.4 ± 0.62*	8.0 ± 0.29	7.85 ± 0.31	4.8 ± 0.27	4.7 ± 0.30
Диаметр гранул, нм	180 ± 2.3 (382)	143 ± 1.9*(303)	229 ± 5.7 (293)	211 ± 4.4 (247)*	227 ± 3.0 (293)	251 ± 3.2*(270)
зрелые	206 ± 2.1 (171)	173 ± 1.5* (121)	230 ± 4.5 (133)	255 ± 4.9 (75)*	250 ± 3.9 (111)	274 ± 4.1* (135)
растворяющиеся	170 ± 3.7 (115)	144 ± 3.6* (49)	223 ± 7.6 (87)	189 ± 3.9 (93)*	227 ± 4.4 (129)	240 ± 3.9* (104)
формирующиеся	144 ± 3.2 (96)	115 ± 2.0* (132)	148 ± 5.9 (55)	174 ± 4.5 (74)*	179 ± 5.7 (53)	176 ± 6.3 (31)
атипичные	—	—	496 ± 26 (18)	520 ± 33 (5)	—	547 ± 43 (7)

В скобках — число измерений, \* межлинейные различия достоверны при  $p < 0.05$ .



**Рис. 3.** Атипичные крупные гранулы (стрелки) и миелопоподобные тельца в цитоплазме миоэндокринной клетки правого предсердия у 12-суточного крысенка линии ВАГ. Электронограмма. Масштаб 2 мкм.

длину, сужены на концах, овальные ядра располагаются в центре. Внутренняя композиция мышечных клеток предсердия имеет свои особенности: сформированные миофибриллы заполняют периферию клеток, а широкое пространство около полюсов ядра заполнено крупными митохондриями с многочисленными кристами (табл. 1). Часто встречаются разнообразные вакуоли, лизосомы, миелопоподобные тельца. Количество секреторных гранул в одной группе клеток варьирует в очень широких пределах: в одних — гранулы в срез не попадают, зато в них больше миофибрилл и они потоньше, а рядом могут располагаться клетки с большим количеством гранул и крупным пластинчатым комплексом. Складывается впечатление, что клетки подразделяются на чисто сократительные и миоэндокринные, но насколько эта дифференцировка необратимая, судить невозможно.

Секреторных гранул в миоэндокринных клетках у крысят линии ВАГ мало. Они крупные (в среднем около 230 нм в диаметре), часто неправильной формы, даже в “зрелых” гранулах электронная плотность сердцевинки под мембраной снижена и приобретает зернистую структуру. Зрелые секреторные гранулы составляют половину гранулярного пула, формирующихся гранул мало (табл. 1, рис. 2). Кроме того, в цитоплазме обнаруживаются “атипичные” структуры — крупные тельца округлой или слегка неправильной формы

диаметром около 500 нм, похожие на очень крупные гранулы или первичные лизосомы, или слившиеся гранулы, или на гранулы, поглощенные лизосомами (рис. 3). Возможно, это — отражение внутриклеточного избытка и утилизации путем аутофагии (кринофагии) накопленного и невыделенного секрета.

У крысят линии НИСАГ на 12-е сутки жизни, несмотря на низкую среднюю массу тела, относительный вес сердца и диаметр кардиомиоцитов правого предсердия достоверно больше, чем у крысят линии ВАГ (табл. 1). При этом внутренняя композиция клеток по содержанию миофибрилл и митохондрий у крысят обеих линий практически не различается. Однако у крысят гипертензивной линии относительный объем секреторных структур (пластинчатого комплекса и гранул) в два с лишним раза больше, чем у одновозрастного контроля, при меньшем содержании в цитоплазме свободного гликогена. Детальное морфологическое и морфометрическое исследование секреторных гранул показало, что количество гранул в миоэндокринных клетках в 3.5 раза больше, а их средний диаметр меньше, чем у одновозрастного контроля (табл. 1). Однако если проанализировать размеры гранул по морфологическим разновидностям, то видно, что в клетках у крысят гипертензивной линии преобладают более мелкие формирующиеся и растворяющиеся разновидности, которых в общей сложности около 70%. Лишь 30% гранул составляют зрелые формы (рис. 2), которые достоверно крупнее, чем у контрольных животных (табл. 1). Кроме того, у крысят линии НИСАГ в саркоплазме было обнаружено значительно меньше (5 против 18) атипичных гранул. Эти данные принято интерпретировать как отражение активного синтеза и усиленного (экстренного) выделения секрета.

**21-е сутки жизни.** К трехнедельному возрасту крысята переходят на самостоятельное питание, но еще не достигают половой зрелости.

У крысят линии ВАГ за 10 дней, прошедшие с предыдущего срока исследования, увеличение массы тела сопровождается пропорциональным увеличением массы сердца и неизменным размером кардиомиоцитов правого предсердия. В клетках сохраняется стабильное (на уровне 1.3) объемное соотношение основных клеточных органоидов — миофибрилл и митохондрий. Насыщение цитоплазмы клеток этими структурами сопровождается закономерным уменьшением содержания в ней гликогена (табл. 1). Достаточно стабильными остаются средние размеры и состав секреторных гранул. Их количество в миоэндокринных клетках на треть больше, чем у малень-

ких крысят, но вдвое меньше, чем у эмбрионов (рис. 2).

Принципиально иная динамика рассмотренных параметров обнаруживается у крысят линии НИСАГ за 10-дневный период с 12-е по 21-е сутки жизни. Прежде всего, у них происходит очень быстрый прирост массы тела (в 2.2 раза при 1.4 у крысят ВАГ). Поскольку прирост массы сердца не столь значительный (в 1.5 раза), межлинейных различий по относительной массе органа на этом этапе жизни нет. Сохраняются различия по диаметру миоэндокринных клеток и их внутренней композиции. У крысят НИСАГ более крупные клетки содержат много достаточно толстых миофибрилл, между которыми относительно мало митохондрий (табл. 1). Секреторные гранулы и пластинчатые комплексы встречаются чаще и занимают больший объем в цитоплазме миоэндокринных клеток, чем у крысят нормотензивной линии (суммарно 7 и 3% соответственно). Гранулы крупные (в среднем 250 нм, а зрелые – более 270 нм в диаметре), они часто имеют неправильные очертания за счет “растворения” с одной или нескольких сторон, можно наблюдать гранулы и их фрагменты в составе аутофагосом. В гранулярном пуле обнаруживается подавляющее преобладание крупных зрелых и растворяющихся разновидностей, лишь 11% составляют формирующиеся формы (рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у крысят НИСАГ к концу периода молочного вскармливания гипертрофированные предсердные кардиомиоциты имеют ультраструктурные признаки повышенной секреторной активности. По сравнению с предыдущим этапом онтогенеза (12-е сутки жизни) в клетках изменяется соотношение процессов синтеза, накопления и выделения секреторного продукта. Пептиды накапливаются в гранулах (их размер увеличивается), интенсивность синтетических процессов снижается, 2.5% от общего количества гранул составляют атипичные крупные формы со средним диаметром более 500 нм, которые у контрольных животных в этом возрасте отсутствуют.

#### *Особенности миоэндокринных клеток у половозрелых крыс*

**6-месячные самцы.** Сердце самых распространенных лабораторных животных – белых крыс – изучено подробно всеми возможными методами. Что касается морфологии, то анатомия, гистология, гистохимия и ультраструктура желудочков сердца неоднократно описаны, их многочисленные параметры измерены как в норме, так и при

патологии в клинике и эксперименте. Клетки предсердий у взрослых животных исследованы хуже, но их описания можно найти в соответствующей литературе (Румянцев, 1982; Лапша и др., 2005; Волкова и др., 2006, Chimenti et al., 2010). В данном разделе мы остановимся лишь на особенностях клеток правого предсердия у самцов-гипертоников линии НИСАГ. Гипертрофия в сердце у этих животных по сравнению с нормотензивными одновозрастными самцами проявляется на всех уровнях: по относительной массе сердца, по размеру клеток (в 1.5 раза больше средний диаметр), по содержанию миофибрилл. Во внутриклеточной архитектонике обнаруживаются те же диспропорции, какие были отмечены у неполовозрелых животных в конце первого месяца жизни: в цитоплазме относительно мало митохондрий (объемное отношение миофибрилл и митохондрий 2.4 против 1.95 в контроле), а секреторный аппарат (пластинчатые комплексы и гранулы) занимает в 1.5 раза больший относительный объем, чем в контроле (табл. 2). Межлинейных различий по размеру гранул у взрослых животных нет, но количество их у животных-гипертоников почти вдвое больше, а потому они располагаются не только в околядерной зоне, но и между миофибриллами и под сарколеммой (рис. 2, 4а, 4б). Чаще чем в контроле среди гранул встречаются различные атипичные разновидности. В некоторых клетках преобладают гранулы с фрагментарным растворением (исчезновением) электронноплотной сердцевинки, что придает гранулам неправильные и причудливые очертания. В крупных скоплениях гранул встречается мелкозернистое перерождение сердцевинки гранул, их слияние и превращение в конгломераты по типу крупных лизосом. В части клеток наблюдается равномерное снижение электронной плотности сердцевинки гранул с исчезновением подмембранной ободки при сохранении целостности окружающей мембраны. Миелиноподобных телец вообще много в цитоплазме кардиомиоцитов, но особенно их много около или в составе крупных гранулярных скоплений. Все это выражается в значительном преобладании растворяющихся разновидностей гранул (более 50%) в общем гранулярном пуле клеток на этом этапе онтогенеза, что очевидно из рис. 2.

Ранее нами было показано, что ядра в предсердных кардиомиоцитах у взрослых крыс линии НИСАГ содержат больше эухроматина и больше пор в оболочке, чем у контрольных животных (Максимов и др., 2004). Перечисленные морфологические и морфометрические данные дают возможность сделать заключение, что у крыс-ги-

**Таблица 2.** Параметры кардиомиоцитов правого предсердия взрослых крыс линий ВАГ и НИСАГ

Параметр	6 месяцев		13 месяцев	
	ВАГ (6)	НИСАГ (5)	ВАГ (6)	НИСАГ (5)
Артериальное давление, мм рт.ст.	121 ± 4	179 ± 2.5*	120 ± 6	178 ± 1*
Масса тела, г	376 ± 6.1	362 ± 12	389 ± 4.2	407 ± 12
Масса сердца, мг	1228 ± 30	1365 ± 83	1023 ± 15	1476 ± 25*
Масса сердца/тела, мг/г	3.27 ± 0.08	3.78 ± 0.20*	2.63 ± 0.02	3.63 ± 0.08*
Диаметр клеток, мкм	7.8 ± 0.11 (227)	11.8 ± 0.40* (188)	8.1 ± 0.11 (142)	13.1 ± 0.18* (149)
Относительный объем, %	(60)	(57)	(50)	(50)
Миофибриллы	56.3 ± 0.48	61.5 ± 0.71*	55.4 ± 0.67	52.3 ± 0.77*
Митохондрии	29.0 ± 0.53	25.3 ± 0.57*	31.3 ± 0.57	29.6 ± 0.54*
Гликоген	2.8 ± 0.18	1.5 ± 0.18*	—	—
Комплекс Гольджи	1.3 ± 0.14	2.1 ± 0.15*	2.2 ± 0.22	3.3 ± 0.26*
Гранулы	2.7 ± 0.31	3.7 ± 0.28*	4.2 ± 0.33	8.6 ± 0.50*
Другие органоиды	8.2 ± 0.39	5.9 ± 0.47*	6.9 ± 0.42	6.2 ± 0.50
Диаметр гранул, нм	252 ± 5.3 (241)	255 ± 4.9 (249)	307 ± 4.3 (247)	306 ± 5.5 (264)
зрелые	269 ± 4.9 (122)	277 ± 7.0 (103)	334 ± 4.6 (147)	354 ± 4.6* (171)
растворяющиеся	241 ± 10 (109)	250 ± 6.4 (130)	283 ± 6.4 (84)	271 ± 8.8 (41)
формирующиеся	167 ± 12.7 (10)	149 ± 7.7* (16)	186 ± 9.1 (16)	176 ± 3.9 (52)

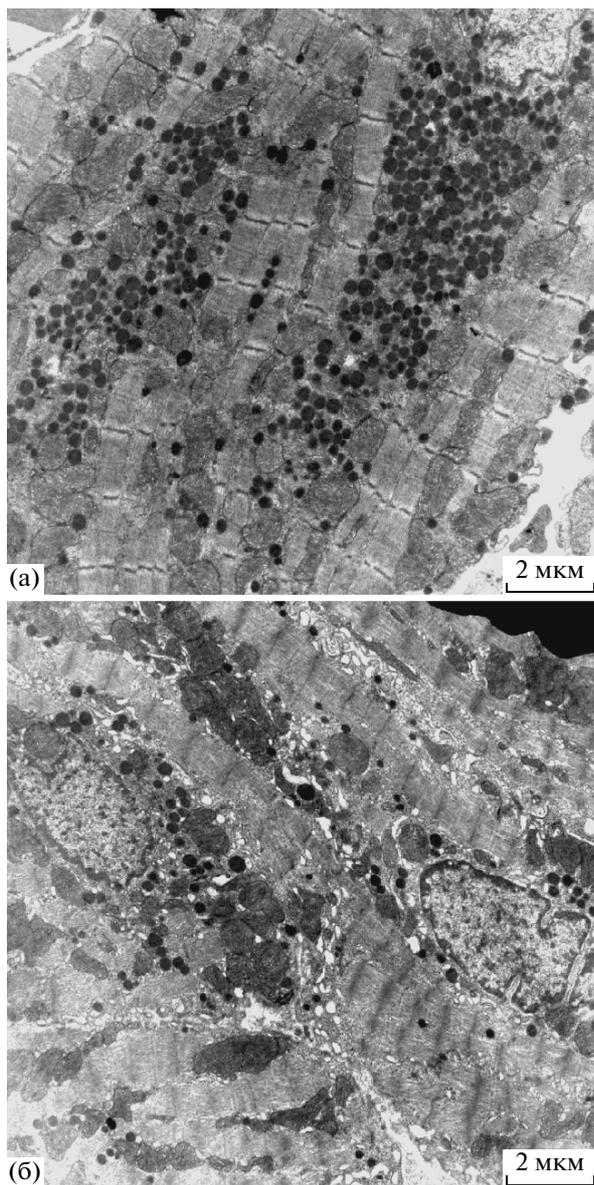
В скобках – число измерений, \* межлинейные различия достоверны при  $p < 0.05$ .

пертоников с повышенной стресс чувствительностью в предсердных кардиомиоцитах имеется выраженная стойкая секреторная гиперфункция.

**13-месячные самцы.** У крыс линии ВАГ за второе полугодие жизни существенных изменений артериального давления и массы тела не происходит. Абсолютная и относительная масса сердца уменьшается, однако на размерах и композиции предсердных миоцитов это не отражается. На этом фоне морфологически и морфометрически регистрируются ультраструктурные признаки усиления секреторной активности клеток: более развиты пластинчатые комплексы, достоверно больше секреторных гранул в цитоплазме и они крупнее (табл. 2). Как и у полугодовалых животных преобладают зрелые формы гранул, меньше рас-

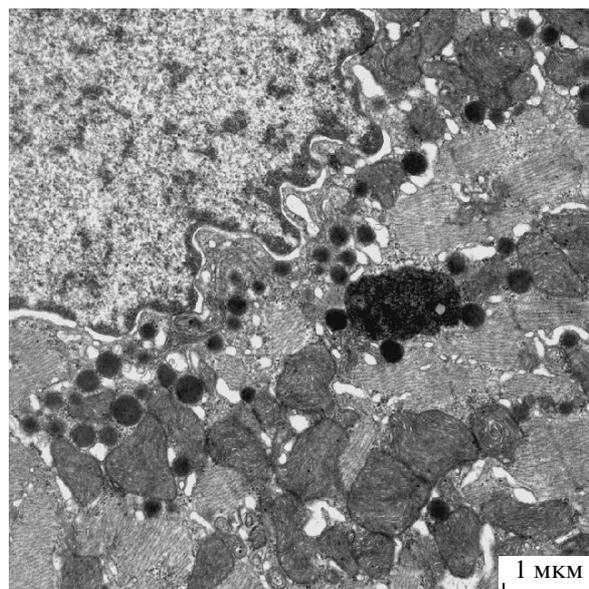
творяющихся и формирующихся разновидностей (рис. 2). В цитоплазме, особенно в околядерном пространстве, встречаются крупные митохондрии и конгломераты дегенерирующих гранул. Они представляют собой элетронноплотные зернистые образования без ограничительной мембраны неправильной формы. Иногда наблюдается тесный контакт этих структур и их слияние с секреторными гранулами, имеющими, как правило, неоднородную зернистую сердцевину (рис. 5).

К годовалому сроку крысы-самцы линии НИСАГ приобретают физиологические и поведенческие признаки глубокой старости, многие до этого срока не доживают. При вскрытии – сердце очень большое с расширенными камерами и дряблое. Кардиомиоциты предсердия сильно



**Рис. 4.** Накопление разнообразных по форме и электронной плотности секреторных гранул в гипертрофированных предсердных миоцитах у 6-месячных гипертензивных крыс линии НИСАГ (а) и у нормотензивных контрольных крыс линии ВАГ (б). Электронограммы. Масштаб 2 мкм.

гипертрофированы с непараллельным ходом миофибрилл по длинной оси клетки. Во многих клетках имеются признаки вакуольной дистрофии. Митохондрий не много, но они очень крупные. Значительно чаще, чем в контроле, встречаются митохондрии с циркулярно закрученными кристами. Многочисленные миелопоподобные тельца располагаются в цитоплазме мышечных клеток, встречаются под сарколеммой, иногда видны свободно в интерстиции или в макрофа-



**Рис. 5.** Крупные секреторные гранулы, их слияние и внутриклеточная деградация в околядерном пространстве миоэндокринной клетки правого предсердия у крысы ВАГ на 13-м месяце жизни. Электронограмма. Масштаб 1 мкм.

гальных клетках, обнаруживаются и в просвете сосудов.

Некоторые миоэндокринные клетки крыс-гипертоников на втором году жизни просто переполнены многочисленными секреторными гранулами, которые образуют плотные скопления у полюсов ядра, цепочками располагаются между миофибриллами и под сарколеммой. В соседних клетках гранул может быть меньше, они могут отличаться по размерам и распределению. Удивительно то, что в этом возрасте у крыс НИСАГ все ультраструктурные признаки свидетельствуют об активном синтезе секреторного продукта — в клетках очень крупные комплексы Гольджи, около которых среди многочисленных пузырьков и вакуолей обнаруживаются все последовательные этапы формирования гранул. Подавляющее большинство гранул представлено зрелыми формами, но имеются все ультраструктурные разновидности гранул по степени зрелости и по механизму деградации, описанные выше (рис. 2). Особенно характерно слияние гранул и их деградация *in situ* в структуры, похожие на лизосомы или остаточные тельца. Такие формы внутриклеточной дегенерации секреторного продукта в клетках гипертоников встречаются значительно чаще, чем у одновозрастного контроля — как правило, обнаруживается три и более таких структур на срезе любого крупного скопления гранул.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего, логично обосновать применение морфологического метода для оценки функциональных процессов, которыми являются синтез и выделение секреторных продуктов из мышечных клеток предсердий. Ультраструктурное исследование — трудоемкий, но общепризнанный способ оценки активности внутриклеточных процессов, имеющий свои преимущества (объективная привязка к конкретным органоидам) и ограничения (отсутствие динамических характеристик). Выделение морфологических разновидностей гранул — формирующиеся, зрелые и растворяющиеся формы — прием, позволяющий оценивать активность различных этапов внутриклеточных процессов. Объективность результатов обеспечивается одинаковыми условиями подготовки образцов, соблюдением правил стереоморфометрии, “слепым” способом подсчета и достаточным объемом выборок для статистической обработки. Дело в том, что современные молекулярные, биохимические и иммунологические методы пока не дали общепризнанного точного и специфичного способа определения концентрации натрийуретических пептидов в биологических средах по причинам, подробно обсуждаемым в специальной литературе и обзорах (Wopow, 1996; Clerico et al., 2000). Еще меньше в настоящее время ясности в процессах внутриклеточного синтеза, накопления и выделения секреторного продукта, не определены пути регуляции этих процессов, как на уровне организма, так и внутри клеток (de Bold et al., 1996; Baertschi et al., 2001; Goetze, 2010).

Если анализировать онтогенетическую динамику содержания и состава секреторных гранул в мышечных клетках предсердий на рис. 2, то можно отметить некоторые общие закономерности. У крыс обеих изученных линий большая концентрация секреторного продукта в миоэндокринных клетках наблюдается в эмбриогенезе, его количество снижается после рождения, особенно у маленьких крысят, а затем он накапливается в клетках, достигая максимума у животных на 13-м месяце жизни. Это соответствует данным, полученным радиоиммунным методом, о содержании натрийуретических пептидов в предсердиях крыс в постнатальном онтогенезе (Navaratnam et al., 1989). На всех изученных этапах онтогенеза численная плотность гранул выше, а качественный состав более разнообразный у крыс гипертензивной линии, чем в контроле.

Мы показали, что у эмбрионов линии ВАГ (контроль) на 18-е сутки развития в мышечных

клетках по мере дифференцировки активно формируется и начинает функционировать натрийуретическое звено поддержания водно-солевого гомеостаза. На фоне незавершенной дифференцировки клеток (митозы, большой объем гликогена и малый — миофибрилл, табл. 1) органоиды, ответственные за синтез секрета, развиты очень хорошо, гранул в клетках много, имеются все их разновидности. Приблизительное соответствие формирующихся и растворяющихся форм свидетельствует об определенном стабильном или “базальном” уровне секреторной активности. Эти находки соответствуют данным о том, что у эмбрионов крыс первые клетки с иммунной реактивностью к сердечному пептиду появляются среди кардиомиоцитов предсердий очень рано — на 10-й или 11-й день беременности (DeLoof et al., 1995). Ежедневное измерение и-РНК по ходу эмбриогенеза у мышей показало, что экспрессия ее появляется на 8–9 день гестации с наибольшим пиком на 12.5 день и меньшими пиками в период 14.5–16.5 суток развития (Cameron et al., 1996).

У крыс гипертензивной линии НИСАГ уже на 18-е сутки эмбриогенеза в миоэндокринных клетках предсердия обнаруживаются морфологические признаки повышенной секреторной активности. Преобладание среди гранул формирующихся форм (рис. 2) и мелкие размеры зрелых гранул (табл. 1) могут отражать повышенную потребность в их продукции, которая не задерживается в клетке и выделяется “с колес”. Это может свидетельствовать о том, что уже на самых ранних этапах онтогенеза эта депрессорная регуляторная система реагирует на генетически закрепленные отклонения в ходе индивидуального развития и/или внешние стимулы. По-видимому, это достаточно универсальное явление и для других классов позвоночных, поскольку, по нашим данным, у куриных эмбрионов уже на 14-е сутки развития в условиях гипоксии в клетках предсердий наблюдаются аналогичные ультраструктурные признаки гиперсекреции (Максимов, Коростышевская, 2012).

В литературе имеются отдельные экспериментальные данные о том, что натрийуретические пептиды играют существенную роль в формировании и функционировании вне- и внутриэмбриональной сосудистой системы, обмене жидкости и солей, регуляции гемодинамики и других ключевых процессов развития и роста организма. Признается, что у эмбрионов особенно актуально их выраженное действие на морфогенез сердца — они сдерживают рост кардиомиоцитов, соединительнотканной стромы и утолщение сосудистых стенок (Feng et al., 2003; D’Souza et al., 2004; Das

et al., 2009; Scott et al., 2009). Возможно, на этом этапе онтогенеза повышенная секреция натрийуретических пептидов у гипертензивной линии НИСАГ сдерживает генетически запрограммированную гипертрофию миокарда и другие типичные для гипертоников перестройки в сердце.

Нужно отметить, что высокое содержание секрета в клетках миокарда может мало соотноситься с содержанием активного пептида в крови эмбриона, поскольку количество таких клеток в миокарде на этой стадии развития эмбриона доподлинно неизвестно. Кроме того, у эмбрионов существенный вклад в секрецию пептидов вносят кардиомиоциты желудочков, активность которых прогрессивно снижается и сходит на нет в первые дни после рождения (Navaratnam et al., 1989). По данным Занг и Пасумарти (Zhang, Pasumarthi, 2007), у мышей на 11.5 сутки эмбриогенеза в миокарде желудочков только 14% зрелых миоцитов, 43% малодифференцированных и 43% недифференцированных клеток. На стадии 16.5 суток последних насчитывается около 20%, а на 18.5 сутки — остается всего 7%. В постнатальном периоде, когда в сердце завершаются морфогенетические процессы, функциональная активность миоэндокринных клеток в большой мере отражает поступление гормона в кровотоки.

У быстро растущих неполовозрелых крысят линии ВАГ в первый месяц жизни в миоэндокринных клетках содержится меньше гранул, чем у эмбрионов, но они достоверно крупнее и по мере роста клеток и их окончательной дифференцировки количество гранул в цитоплазме нарастает (табл. 1, рис. 2). Характер секреции, оцененный по соотношению типов гранул, не претерпевает существенных изменений — он носит “спокойный” характер. К сожалению, в литературе нет пока сложившейся концепции регуляции выделения и механизма секреции натрийуретических пептидов. Высказывается мнение, что “базальная” секреция вне стимуляции происходит, минуя стадию секреторных гранул. При специфической стимуляции сначала в острую стадию выделяется секрет, накопленный в гранулах, а затем начинается усиленный синтез пептидов *de novo* для обеспечения потребностей и пополнения запасов (de Bold et al., 1996; Ogawa et al., 1999). Морфологический эквивалент этого механизма можно наблюдать в клетках предсердий у крысят линии НИСАГ. В крупных миоэндокринных клетках очень хорошо развиты пластинчатые комплексы, много секреторных гранул, причем среди них около половины составляют формирующиеся и растворяющиеся формы. В связи с этим логично поставить вопросы: что является

стимулом для секреторной гиперактивности, и почему натрийуретические пептиды не оказывают своего модулирующего влияния на рост миоцитов на этом этапе и развитие гипертензии на последующих сроках жизни? Напомним, что уже на 12-е сутки жизни мы наблюдаем выраженную относительную гипертрофию сердца на фоне отставания массы тела от контроля, и абсолютную гипертрофию кардиомиоцитов предсердия, а наследственно обусловленная гипертензия проявляется у крыс НИСАГ только на втором месяце жизни. Это принципиально отличает миоэндокринные клетки предсердий у крысят НИСАГ первого месяца жизни от сократительных миоцитов желудочков, диаметр которых на 21-е сутки жизни даже не достигает величины одновозрастного контроля (Шмерлинг и др., 2005). Функциональная несостоятельность при избытии натрийуретических пептидов, получившая название “гормональный парадокс”, начинает проявляться на очень ранних этапах постнатального онтогенеза и сопровождается формированием стойкой гипертензии со всеми регуляторными, функциональными и морфологическими нарушениями на уровне тканей, органов и организма.

У взрослых полугодовалых животных в клетках предсердий у крыс линии ВАГ гранул в клетках больше, чем у крысят, они крупнее. При этом формирующихся форм мало, зато встречаются разные варианты внутриклеточной утилизации секреторного материала: неравномерное растворение содержимого гранул, их слияние и зернистая деградация. Однако все эти явления значительно более ярко проявляются у крыс линии НИСАГ. Для взрослых крыс-самцов линии НИСАГ характерно повышение артериального давления как в покое (до 180 мм рт.ст.), так и особенно значительное — в условиях эмоционального стресса (до 220 мм рт.ст.). Комплексное исследование выявило у этих животных изменения основных звеньев регуляции гемодинамики — гипофизарно-надпочечниковой, ренин-ангиотензин-альдостероновой и инсулин-адреналовой систем. Параллельно в сердце обнаруживаются все морфологические изменения, характерные для гипертензивного статуса: большая относительная масса, умеренный кардиосклероз, гипертрофия желудочковых кардиомиоцитов, утолщение стенки и уменьшение просветов коронарных артерий (Шмерлинг и др., 1997). В предсердных миоэндокринных клетках гранул значительно больше, чем в контроле, они более активно формируются, но еще более активно деградируют — более половины всех гранул имеют различные признаки растворения содержимого. Такая диспропорция между интенсив-

ностью процессов синтеза и выделения дает возможность предположить, что у гипертензивных животных в покое в мышечных клетках предсердий скапливается большое количество гранул, выделение которых по потребности компенсируется их активным синтезом в хорошо развитых комплексах Гольджи. По-видимому, генетически закрепленная высокая стресс чувствительность этих животных проявляется резким повышением артериального давления в ответ на манипуляции, что сопровождается экстренным выделением накопленного в клетках секреторного продукта.

После года жизни в состоянии кардиомиоцитов предсердий у изученных линий крыс обнаруживаются принципиальные различия. У нормотензивных крыс ВАГ морфологических признаков “старения” в миокарде предсердий не наблюдается: ни размеры клеток, ни их внутриклеточная композиция, ни соотношение основных органоидов (миофибрилл и митохондрий) не изменяются за прошедшие семь месяцев жизни после предыдущего этапа исследования. Что касается секреторного аппарата клеток, то относительный объем гранул и аппаратов Гольджи, количество и размеры гранул увеличиваются, но состав не изменяется. Принципиально другая ситуация обнаруживается в клетках предсердий у одновозрастных гипертензивных крыс. Очень крупные клетки имеют признаки дистрофии – в них мало миофибрилл и митохондрий. Более 10% цитоплазмы клеток занимают структуры синтеза, и, прежде всего, огромные скопления крупных секреторных гранул (табл. 2). В этих скоплениях всегда присутствуют несколько гранулярных телец неправильной формы по типу остаточных телец – одна из форм внутриклеточной деградации гранул. Состав гранул свидетельствует о накоплении большого запаса секреторного продукта при достаточно сбалансированных процессах синтеза и выделения. Стимуляция секреторной активности кардиомиоцитов на фоне возрастной деградации миофибрилл и особенно митохондрий остается непонятной. Возможно, это наблюдение по механизму соотносится с известными из литературы данными о восстановлении секреторной активности фетальных натрийуретических пептидов в кардиомиоцитах желудочков взрослых особей при тяжелых декомпенсированных расстройствах гемодинамики (Langenickel et al., 2000; Cameron, Ellmers, 2003).

Таким образом, ультраструктурное исследование кардиомиоцитов правого предсердия крыс показало, что уже у 18-суточных эмбрионов на фоне незавершенного морфогенеза предсердий в миоэндокринных клетках активно формируются,

накапливаются и растворяются секреторные гранулы, содержащие натрийуретические пептиды. По ходу постнатального онтогенеза в клетках предсердий происходит накопление секреторного продукта, достигая максимума у 13-месячных животных. На всех изученных этапах онтогенеза у крыс НИСАГ с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией в миоэндокринных клетках численная плотность гранул выше и качественный состав их более разнообразный, чем в контроле. Морфологические признаки гиперсекреции натрийуретических пептидов, выявленные у эмбрионов и у 12- и 21-дневных крысят линии НИСАГ, предшествуют генетически запрограммированному повышению артериального давления, которое регистрируется на 2-м месяце жизни. У взрослых крыс НИСАГ на фоне высокого артериального давления гипертрофические и дегенеративные изменения миоцитов сопровождаются избыточным накоплением крупных секреторных гранул, часть которых подвергается внутриклеточной деградации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Волкова Н.Н., Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Ультраструктурные и функциональные особенности кардиомиоцитов предсердий и желудочков // Клиническая медицина. 2006. № 11. С. 16–20.
- Коростышевская И.М., Максимов В.Ф. Где и когда в сердце секреторируются натрийуретические пептиды // Онтогенез. 2012. Т. 43. № 3. С. 217–228.
- Лапша В.И., Бочарова В.Н., Гурин В.Н. Структурно-функциональные изменения в правом предсердии у крыс при кратковременном и длительном тепловом стрессе // Морфология. 2005. Т. 128. № 5. С. 48–52.
- Максимов В.Ф., Коростышевская И.М., Маркель А.Л. и др. Структурные особенности кардиомиоцитов правого предсердия у крыс гипертензивной линии НИСАГ // Бюлл. экспер. биол. мед. 2004. Т. 138. № 7. С. 4–8.
- Максимов В.Ф., Коростышевская И.М. Гормональная система сердца как звено регуляции гемодинамики и водно-солевого гомеостаза // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2011. Т. 97. № 3. С. 263–275.
- Максимов В.Ф., Коростышевская И.М. Морфогенез и реакция на гипоксию миоэндокринных клеток предсердия у куриных эмбрионов (*Gallus gallus*) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2012. Т. 48. № 5. С. 502–508.
- Маслова Л.Н., Шишкина Г.Н., Булыгина В.В. и др. Катехоламины мозга и гипоталамо-гипофизарно-адреноренальная система при наследственной артериальной гипертензии // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1996. Т. 82. № 4. С. 30–38.

- Маркель А.Л.* Генетическая модель индуцированной стрессом артериальной гипертензии. Изв. АН СССР. Сер. биол. 1985. Т. 3. С. 466–469.
- Рахчиева М.В., Бугрова М.Л.* Изменение соотношения гранул А- и В-типов, содержащих предсердный и мозговой натрийуретические пептиды, в предсердных миоцитах крыс в условиях вазоренальной гипертензии // Цитология. 2010. Т. 52. № 8. С. 629–633.
- Румянцев П.П.* Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л.: Наука, 1982.
- Шмерлинг М.Д., Филюшина Е.Е., Коростышевская И.М. и др.* Гисто- и ультраструктурная характеристика миокарда крыс новой гипертензивной линии (НИСАГ) в раннем периоде онтогенеза // Бюлл. СО РАМН. 1997. № 2. С. 91–94.
- Шмерлинг М.Д., Бузуева И.И., Коростышевская И.М. и др.* Стереоморфометрическое исследование органов-мишеней у крыс с наследственной артериальной гипертензией в разные периоды постнатального онтогенеза при изменении условий вскармливания // Морфология. 2005. Т. 128. № 4. С. 85–90.
- Azizov V.A., Muradova S.R.* Immunohistochemical and electron-microscopic characterization of secretory cardiomyocytes in experimental myocardial infarction // Anadolu Kardiol. Derg. 2003. № 4. P. 299–302.
- Avramovitch N., Hoffman A., Winaver J. et al.* Morphometric analysis of atrial natriuretic peptide-containing granules in atrioocytes of rats with experimental congestive heart failure // Cell Tissue Res. 1995. V. 279. № 3. P. 575–583.
- Baertschi A.J., Monnier D., Schmidt U. et al.* Acid prohormone sequence determines size, shape, and docking of secretory vesicles in atrial myocytes // Circ. Res. 2001. V. 89. P. E23–E29.
- Bonow R.O.* New insights into the cardiac natriuretic peptides // Circulation. 1996. V. 93. P. 1946–1950.
- de Bold A.J., Borenstein H.B., Veress A.T. et al.* A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats // Life Sci. 1981. V. 28. P. 89–94.
- de Bold A.J., Bruneau B.G., de Bold M.L.* Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart // Cardiovasc. Res. 1996. V. 31. P. 7–18.
- Cameron V.A., Aitken G.D., Ellmers L.J. et al.* The sites of gene expression of atrial, brain, and c-type natriuretic peptide in mouse fetal development: temporal changes in embryos and placenta // Endocrinology. 1996. V. 137. P. 817–824.
- Cameron V.A., Ellmers L.J.* Minireview: Natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation // Endocrinology. 2003. V. 144. № 6. P. 2191–2194.
- Chimenti C., Russo M.A., Carpi A., Frustaci A.* Histological substrate of human atrial fibrillation // Biomed Pharmacother. 2010. V. 64. № 3. P. 177–183.
- Clerico A., Ry S.D., Giannessi D.* Measurement of cardiac natriuretic hormones (atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and related peptides) in clinical practice: the need for a new generation of immunoassay methods // Clinical Chemistry. 2000. V. 46. P. 1529–1534.
- Das B.B., Raj S., Solinger R.* Natriuretic peptides in cardiovascular diseases of fetus, infants and children // Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem. 2009. V. 7. № 1. P. 43–51.
- Deloof S., VanCamp G., Chatelain A.* Absence of transplacental transfer of atrial natriuretic peptide in the rat: direct experimental evidence // Med. Sci. Res. 1995. V. 23. P. 347–350.
- D'Souza S.P., Davis M., Baxter G.F.* Autocrine and paracrine actions of natriuretic peptides in the heart // Pharmacol. Ther. 2004. V. 101. № 2. P. 113–129.
- Feng J.A., Perry G., Miri T. et al.* Pressure-independent enhancement of cardiac hypertrophy in atrial natriuretic peptide-deficient mice // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2003. V. 30. № 5–6. P. 343–349.
- Goetze J.P.* Biosynthesis of cardiac natriuretic peptides // Results Probl. Cell Differ. 2010. V. 50. P. 97–120.
- Kawakami H., Okayama H., Hamada M. et al.* Alteration of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide gene expression associated with progression and regression of cardiac hypertrophy in renovascular hypertensive rats // Clin. Sci. 1996. V. 90. P. 197–204.
- Langenickel T., Pagel I., Hohnel K. et al.* Differential regulation of cardiac ANP and BNP mRNA in different stages of experimental heart failure // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2000. V. 278. P. H1500–H1506.
- Nakayama T.* The genetic contribution of the natriuretic peptide system to cardiovascular diseases // Endocrine J. 2005. V. 51. № 1. P. 11–21.
- Navaratnam V., Woodward J.M., Skepper J.N.* Specific heart granules and natriuretic peptide in the developing myocardium of fetal and neonatal rats and hamsters // J. Anat. 1989. V. 163. P. 261–273.
- Ogawa T., Vatta M., Bruneau B.G. et al.* Characterization of natriuretic peptide production by adult heart atria // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 1999. V. 276. Issue 6. P. H1977–H1986.
- Scott N.J., Ellmers L.J., Lanchbury J.C. et al.* Influence of natriuretic peptide receptor-1 on survival and cardiac hypertrophy during development // Biochim. Biophys. Acta. 2009. V. 1792. № 12. P. 1175–1184.
- Tilkova L., Novotova M., Zahradnik I., Kiss A.* Evaluation of changes in secretory granules of atrial myocytes: a morphometric approach // Anal. Quant. Cytol. Histol. 2008. V. 30. № 1. P. 53–59.
- Vesely D.L.* Atrial natriuretic peptides in pathophysiological diseases // Cardiovascular Research. 2001. V. 51. P. 647–658.
- Vesely D.L.* Which of the cardiac natriuretic peptides is most effective for the treatment of congestive heart failure, renal failure and cancer? // Clin. Exper. Pharm. Physiol. 2006. V. 33. № 3. P. 169–176.
- Vesely D.L.* Discovery of new cardiovascular hormones for the treatment of congestive heart failure // Cardiovasc. Hematol. Disord. Targets. 2007. V. 7. № 1. P. 47–62.
- Zhang F., Pasumarthi K.B.* Ultrastructural and immunohistochemical characterization of undifferentiated myocardial cells in the developing mouse heart // J. Cell. Mol. Med. 2007. V. 11. № 3. P. 552–560.

## Age-Related Structural and Functional Characteristics of Cardiac Myoendocrine Cells of Rats in a Normal State and with Hereditary Hypertension

I. M. Korostyshevskaya and V. F. Maksimov

*Institute of Physiology, ul. Timakova 4, Novosibirsk, 630117 Russia*

*e-mail: kor@physiol.ru*

**Abstract**—A qualitative and quantitative ultrastructural study of right atrial cardiomyocytes in WAG (normotensive control) and ISIAH (inherited stress-induced arterial hypertension) rats of different age (on day 18 of embryogenesis, on days 12 and 21 after birth, and at an age of 6 and 13 months) was performed. It was shown that, in embryos with an as yet incomplete atrial morphogenesis, secretory granules containing natriuretic peptides are actively formed, accumulated, and dissolved. In postnatal ontogeny, the secretory product is accumulated in atrial cells. In all ontogeny stages studied, the numerical density of secretory granules in the myoendocrine cells of hypertensive rats is greater and the qualitative composition of these granules is more diverse than in the control. It was established that, in atrial myocytes of ISIAH rats, the morphological signs of natriuretic peptide hypersecretion precede the development of genetically programmed high blood pressure. In adult hypertensive rats, hypertrophic and degenerative changes in myocytes are accompanied by excessive accumulation of secretory granules, some of which undergo intracellular degradation.

*Keywords:* natriuretic peptides, right atrium, cardiomyocyte, ontogeny, rat.