

ИММУНОЛОКАЛИЗАЦИЯ ПРЕДСЕРДНОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА В ТУЧНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИКАРДА КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА

© М. Г. Мартынова,¹ Е. В. Накацева,² М. И. Емельянова,¹ О. М. Мусеева,² И. Л. Ерохина¹

¹ Институт цитологии РАН и ² НИИ кардиологии им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург;
электронный адрес: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru

Известно, что при многих сердечных патологиях в перикардиальной жидкости возрастает уровень предсердного натрийуретического пептида (ANP) — регулятора сердечно-сосудистого гомеостаза. Клеточные источники ANP в перикардиальной полости неизвестны. Мы исследовали методом электронно-микроскопической иммуноцитохимии наличие и локализацию ANP в перикарде крысы и человека. ANP-иммунореактивный материал был обнаружен в гранулах тучных клеток (ТК), расположенных в соединительной ткани перикарда. В перикарде крысы средний размер ТК равен 6.5×12.5 мкм, плотность расположения ТК составляет около 50 клеток на 1 мм^2 площади среза. Для перикарда человека эти показатели равны 9.1×13.6 мкм и 10 клеток на 2 мм^2 площади среза соответственно. Полученные данные свидетельствуют о возможном участии ТК в осуществлении перикардом эндокринной функции и контроля уровня ANP в перикардиальной полости.

Ключевые слова: ANP, иммуноцитохимия, перикард, тучная клетка.

Принятые сокращения: ТК — тучная клетка, ЭМ — электронная микроскопия, ANP — предсердный натрийуретический пептид.

Перикард и перикардиальная жидкость играют важную роль в контроле сердечной деятельности. В перикардиальной жидкости обнаружен целый ряд веществ, влияющих на функциональный статус сердца, а также на рост и регенерацию сердечных тканей. Например, ангиогенный ростовой фактор, концентрирующийся в перикардиальной жидкости, способен усиливать пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов в тканях ишемического сердца (Yoneda et al., 2000). Простагландины перикардиальной жидкости оказывают ингибирующее влияние на эфферентную симпатическую иннервацию сердца (Miyazaki et al., 1990). В составе перикардиальной жидкости у крысы (Wen, 1992), собаки (Szokodi et al., 1997), овцы (Mebazaa et al., 1998) и человека (Horkay et al., 1998) обнаружен также ANP. В норме концентрация этого пептида здесь выше, чем в плазме крови, а у пациентов с сердечной патологией уровень ANP в перикардиальной жидкости еще более повышается (Amano et al., 1993; Fujita et al., 2001; Soos et al., 2002). Натрийуретические пептиды являются сердечными гормонами, регулирующими давление крови и объем жидкости тела. Они вызывают гипотензию благодаря своим диуретическому, натрийуретическому и вазодилататорному действиям. Кроме того, натрийуретические пептиды уменьшают концентрацию ренина и альдостерона в крови и обладают противовоспалительным потенциалом (см. обзор: Sea, 2005). ANP участвует в регенерации сосудистого эндотелия. В условиях культуры физиологические концентрации пептида индуцируют усиленную пролиферацию эндотелиальных клеток коронарных артерий человека (Kokn et al., 2003). ANP обнаружен в проводящей системе

сердца и включен в нейрональную регуляцию органа, оказывая симпатингибирующее и вазостимулирующее действие (Hansson, 2002).

Источники кардиоактивных медиаторов в перикардиальной жидкости, в том числе и ANP, изучены недостаточно. Имеются предположения о том, что продуцентом ANP и других метаболитов, накапливающихся в перикардиальной полости, являются мезотелиальные клетки, выстилающие перикардиальную полость (Wen, 1992; Kuwahara, Kuwahara, 1998; Mebazaa et al., 1998), и (или) клетки перикардиальной жировой ткани (Mazurek et al., 2003). Таким образом, постулируется эндокринная функция самого перикарда. В перикардиальной жидкости человека наиболее многочисленными клетками являются макрофаги и Т-лимфоциты (Riemann et al., 1994).

С целью выяснения возможных клеточных источников высокого содержания ANP в перикардиальной жидкости мы исследовали ANP-иммунореактивность клеток париетального перикарда крысы и человека методом электронно-микроскопической иммуноцитохимии. Обнаружение ANP-иммунореактивного материала в гранулах тучных клеток дает основание предполагать, что эндокринная функция перикарда может быть отчасти связана с секреторной деятельностью этих клеток.

Материал и методика

В работе использовали кусочки перикарда крысы и биопсии перикарда человека. Кусочки париетального перикарда белых беспородных крыс изолировали после де-

капитации животных. Биопсии передней стенки перикарда человека получали от пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (возраст 30—70 лет), при операциях аортокоронарного шунтирования или реконструктивной операции на клапанном аппарате сердца. Биопсии брали ножницами до подключения аппарата искусственного кровообращения.

Светооптическая микроскопия. Для изготовления светооптических препаратов кусочки ткани фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Срезы (5 мкм) окрашивали в течение 30 мин смесью железных квасцов, альцианового голубого 8G и сафранина О, приготовленной на Уолполовском буфере, pH 1.42 (Röhrich, Csaba, 1972), и подкрашивали гематоксилином Майера—эозином.

Плотность тучных клеток на 1 мм² среза в перикарде человека (для 5 пациентов) и крысы (для 5 животных) оценивали на парафиновых срезах, окрашенных по вышеприведенной методике.

Электронная микроскопия. Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани фиксировали в 2.5%-ном растворе глутаральдегида на какодилатном буфере, pH 7.4, с прибавлением 0.15 М сахаразы, постфиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ и после постепенного обезвоживания в ряду спиртов и ацетона заключали в смесь Эпона и Аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB с помощью алмазного ножа, окрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-7A при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Иммуноцитохимия. Выявление клеточной локализации ANP проводили на ультратонких срезах материала, заключенного в эпоксидные смолы. Срезы, помещенные на никелевые сеточки, обрабатывали 3%-ной перекисью водорода в течение 20 мин для разрыхления смолы и повышения иммунореактивности ткани. Затем срезы инкубировали в растворе поликлональных антител к ANP (amino acids 99—126, Peninsula Lab. Inc., Bachem) с рабочим разведением 1 : 1000 в течение 1 сут при 4 °С. В качестве вторых антител использовали белок А, конъюгированный с коллоидным золотом (10 нм) (Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов), с рабочим разведением 1 : 20. Контролем служили срезы, обработанные только вторыми антителами.

Результаты

Перикард крысы представлен тонкостенным мешком, состоящим из слоя соединительной ткани, с обеих сторон покрытым мезотелиальным плоским эпителием. Толщина перикарда крысы варьирует от 13 до 65 мкм. В соединительно-тканной строме расположены пучки коллагеновых и эластических волокон, тонкие кровеносные сосуды и нервные волокна. Клеточная составляющая представлена фибробластами, макрофагами, плазматическими клетками, эозинофилами, мелкими лимфоцитоподобными клетками и ТК. В утолщениях перикарда ближе к каудальной его части расположены скопления жировых клеток. ТК в тонком перикарде лежат свободно, не образуя контактов с другими клетками. В областях, богатых жировыми клетками, ТК часто плотно примыкают к нервным окончаниям (рис. 1) и клеткам другой природы (рис. 2). ТК перикарда крысы имеют овальную форму, гладкую поверх-

ность и средний размер 6.5 × 12.5 мкм. Лобчатое ядро расположено эксцентрично. Около ядра иногда встречаются центриоли (рис. 1) и слабо развитый аппарат Гольджи. Цитоплазма плотно заполнена округлыми гранулами. Популяция ТК перикарда крысы состоит из клеток, содержащих альциан-положительные гранулы, клеток, содержащих сафранин-положительные гранулы, и клеток с обоими типами гранул. Плотность ТК составляет 48.6 ± 13.0 клеток на 1 мм² площади среза.

Париетальный перикард человека состоит из внешнего фиброзного слоя с большим количеством коллагеновых и эластических волокон и внутреннего серозного слоя с более рыхлой соединительной тканью. С обеих сторон перикард покрыт мезотелиальным эпителием. В серозном слое проходят средние и мелкие кровеносные сосуды и нервные волокна. В этом слое также расположены фибробласты, лимфоциты, плазматические клетки, липоциты и ТК. Липоциты особенно многочисленны у пациентов с избыточной массой. Толщина передней стенки перикарда варьирует от 0.85 до 1.70 мм. ТК перикарда человека имеют удлиненную форму и в среднем несколько крупнее ТК перикарда крысы; их размер около 9.1 × 13.6 мкм. В отличие от ТК перикарда крысы ТК перикарда человека несут на поверхности многочисленные длинные отростки (рис. 2). Цитоплазма клетки заполнена гранулами. ТК перикарда человека содержат только альциан-положительные гранулы. Плотность ТК составляет 10.1 ± 4.4 клеток на 1 мм² площади среза.

ANP-иммунореактивный материал был обнаружен в гранулах ТК перикарда крысы и человека (рис. 2). Другие клетки, присутствующие в органе, не демонстрируют наличия ANP в каких-либо структурах. Наблюдаемые картины выброса меченных антителами гранул ТК в окружающую строму свидетельствуют о возможности секреции ANP в процессе дегрануляции ТК.

Обсуждение

В представленной работе показано наличие ANP-иммунореактивного материала в гранулах ТК перикарда крысы и человека. В других клетках, входящих в состав перикардиальной соединительной ткани, такого материала выявлено не было. ТК составляет значительную часть общей популяции перикардиальных клеток, при этом в перикарде крысы их плотность почти в 5 раз выше, чем в перикарде человека. Также следует отметить большую вариабельность ТК крысы по тинкториальным свойствам: ТК в перикарде крысы содержат как альциан-положительные, так и сафранин-положительные гранулы, тогда как в перикарде человека все ТК содержат только альциан-положительные гранулы. В настоящее время неясно, как связана различная окрашиваемость гранул с их биохимическими характеристиками; все гранулы, однако, проявляют ANP-иммунореактивность.

Известно, что в секреторных гранулах ТК присутствует большое количество биологически активных веществ, благодаря чему эти клетки часто рассматривают как одноклеточные железы. ТК принимают самое активное участие в регенераторных процессах, развивающихся при сердечной патологии. Показано существенное возрастание количества ТК в ишемическом сердце крысы (Engels et al., 1995), собаки (Frangogiannis et al., 1998) и человека (Magone et al., 1999). Во время воспалительной ре-

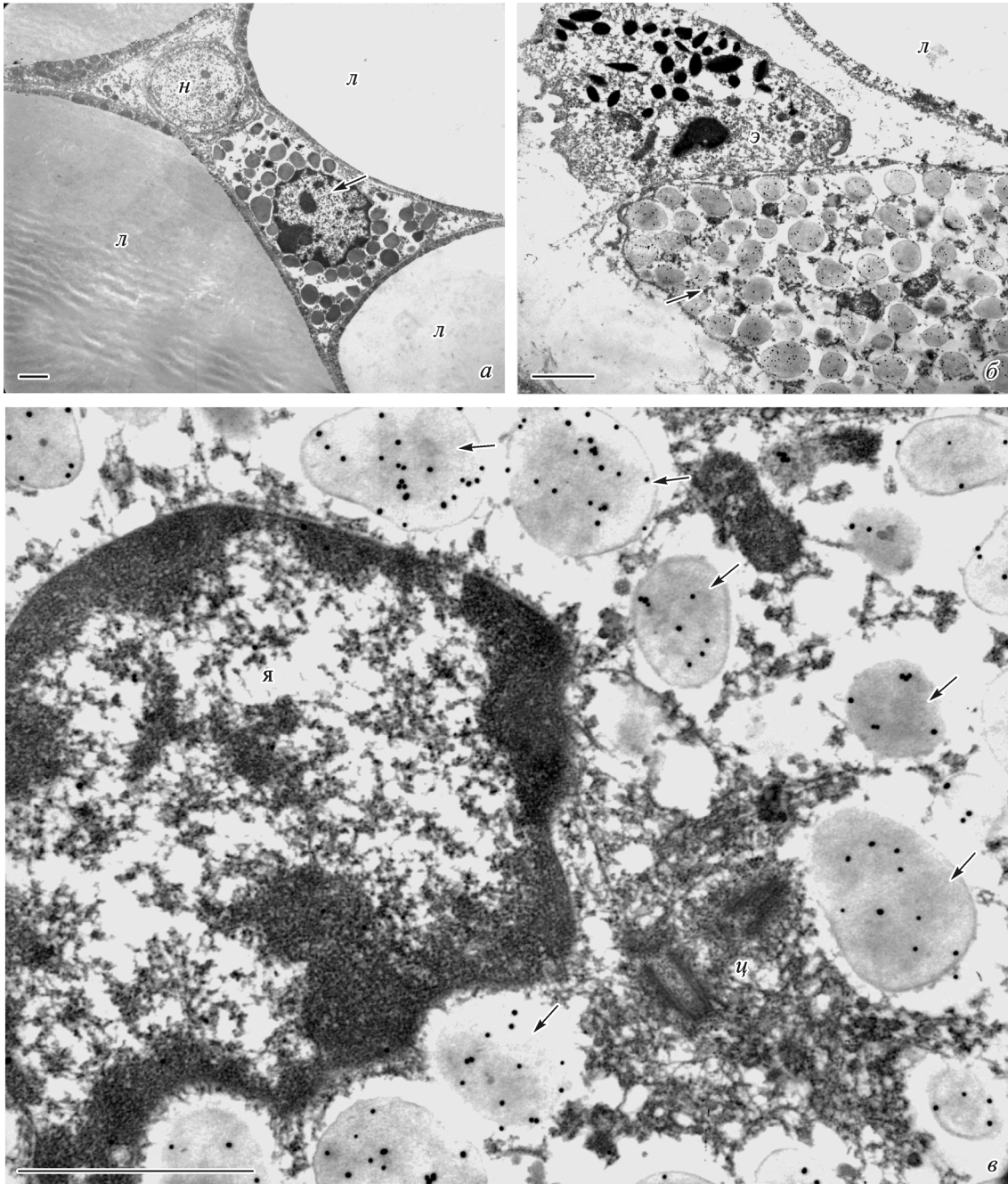


Рис. 1. Электронограммы тучных клеток (ТК) в перикарде крысы.

а — ТК (отмечена *стрелкой*) расположена между липоцитами (*л*) и тесно контактирует с нервным волокном (*н*). *б* — ТК (отмечена *стрелкой*) расположена в соединительнотканной строме около липоцита (*л*) в тесном контакте с эозинофилом (*э*); ультратонкий срез обработан поликлональными антителами к ANP; гранулы ТК несут метку частицами коллоидного золота. *в* — иммуноцитохимическое выявление ANP в гранулах (*стрелки*) вблизи ядра (*я*). Масштабные отрезки — 1 мкм.

акции, развивающейся при инфаркте миокарда, ТК увеличивают экспрессию ростовых факторов, индуцирующих ангиогенез и накопление фибробластов (см. обзор: Ren et al., 2003). Медиаторы ТК влияют и на нервную систему сердца. Дегрануляция ТК, сопровождающая воспалительные реакции при ишемии сердца, приводит к высвобождению гистамина, который стимулирует сердечные нейроны путем активации H1-рецепторов (Powers et al., 2001). В свою очередь катехоламинергическая система оказывает влияние на ТК; после химической симпатотомии сердца крысы в нем значительно возрастает

плотность ТК и повышается активность процесса их дегрануляции (Facoetti et al., 2006).

Разработка метода выделения ТК из сердечной ткани человека (Sperr et al., 1994; Patella et al., 1995) позволила подробнее охарактеризовать их реактивность и химический состав гранул. В культуре активированные ТК сердца человека выделяют преформированные в гранулах вазоактивные и провоспалительные медиаторы, такие как гистамин, триптаза и химаза, и *de novo* синтезируют и секретируют лейкотриен LTC₄, простагландин PGD₂ и цитокины, такие как фактор стволовых клеток SCF и фак-

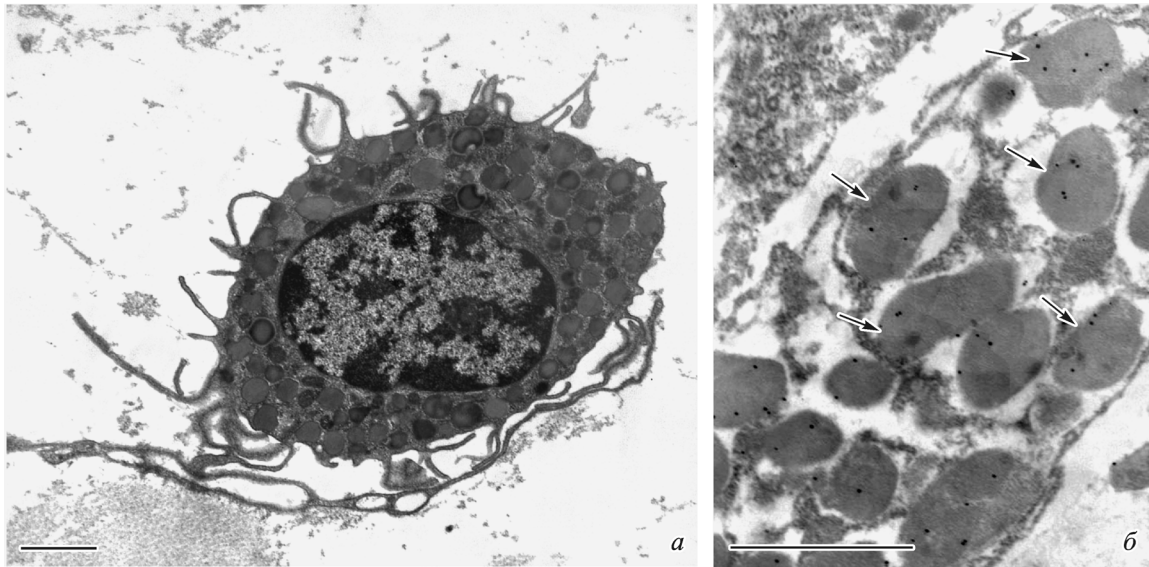


Рис. 2. Электронограммы тучных клеток (ТК) в перикарде человека.

а — ТК, несущая на поверхности многочисленные длинные отростки, расположена в соединительнотканной строме перикарда. *б* — ЭМ-иммуноцитохимическая реакция с антителами к ANP; гранулы, меченные частицами золота, отмечены стрелками. Масштабные отрезки — 1 мкм.

тор некроза опухолей TNF- α (Marone et al., 1999, 2004). Показано, что на сосудах висцерального и париетального перикардов присутствуют хеморецепторы, реагирующие на присутствие различных кардиоактивных веществ, таких как простагландины и брадикинин (Cinca, Rodriguez-Sinovas, 2000). Авторы полагают, что высокая реактивность перикарда вносит свой вклад в общий контроль состояния сердечно-сосудистой системы.

Наличие ANP было выявлено в ТК сердца (Belloni et al., 2005) и перитонеальной полости (Martynova et al., 2005) крысы. Косвенным доводом в пользу присутствия ANP в ТК служат данные о параллельном снижении количества ТК и уровня ANP в сердце крысы после облучения (Forsgren et al., 2001). Интересно, что сам пептид воздействует на ТК крысы и человека, вызывая выделение из них гистамина (Yoshida et al., 1996; Chai et al., 2000). Можно предположить, что ANP, выделяемый ТК, действует по аутокрinovому механизму и активизирует секреторную активность самих ТК.

Обнаружение ANP в гранулах ТК перикарда заставляет по-новому взглянуть на механизм участия этих клеток в регуляции сердечно-сосудистого гомеостаза. Известно, что система натрийуретических пептидов выступает в качестве антагониста ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. ANP ингибирует продукцию ренина и альдостерона в культивируемых кардиомиоцитах неонатальных крыс (Ito et al., 2003), что, по мнению авторов, может сдерживать гипертрофию и фиброз сердца. Секреция сердечными ТК α -химазы влечет за собой активизацию TGF β , ILK-1 β , изменение метаболизма липидов и превращение ангиотензина I в ангиотензин II (Doggrell, Wanstall, 2005). Ангиотензин II — эффекторный пептид ренин-ангиотензиновой системы, который регулирует клеточный рост во время развития и в ответ на физиологические и патологические процессы. Соотношение активности натрийуретической и ренин-ангиотензиновой систем определяет сердечно-сосудистый гомеостаз (Kishimoto et al., 2002). Недавно в ТК сердца человека был обнаружен ре-

нин (Silver et al., 2004). Представляется вероятным, что, дозированно секретируя ренин и ANP, ТК могут оказывать влияние на баланс двух антагонистических кардиорегулирующих систем.

Понимание функциональных особенностей ТК сердца и перикарда имеет большое значение для определения терапевтической стратегии при лечении сердечной патологии и перикардитов. Возможным путем регуляции химического состава перикардиальной жидкости и последующего изменения состояния сердца может стать применение препаратов, влияющих на секреторную деятельность ТК. В последние годы активно разрабатываются методы введения медикаментов непосредственно в перикардиальную жидкость (Spodick, 2000, 2002).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 05-04-49393).

Список литературы

- Amano J., Suzuki A., Sunamori M., Shichiri M., Marumo F. 1993. Atrial natriuretic peptide in the pericardial fluid of patients with heart disease. *Clin. Sci.* 85 : 165—168.
- Belloni A. S., Goidolin D., Salmaso R., Bova S., Rossi G. P., Nussdorfer G. G. 2005. Adrenomedullin, ANP and BNP are colocalized in a subset of endocrine cells in the rat heart. *Int. J. Mol. Med.* 15 : 567—571.
- Cea L. B. 2005. Natriuretic peptide family: new aspects. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents.* 3 : 87—98.
- Chai O. H., Lee Y. H., Han E. H., Kim H. T., Lee M. S., Song C. H. 2000. Atrial natriuretic peptide induces rat peritoneal mast cell activation by cGMP-independent and calcium uptake-dependent mechanism. *Exp. Mol. Med.* 32 : 179—186.
- Cinca J., Rodriguez-Sinovas A. 2000. Cardiovascular reflex responses induced by epicardial chemoreceptor stimulation. *Cardiovasc. Res.* 45 : 159—162.
- Doggrell S. A., Wanstall J. C. 2005. Cardiac chymase: pathophysiological role and therapeutic potential of chymase inhibitors. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 83 : 123—130.

- Engels W., Reiters P. H., Daemen M. J., Smits J. F., van der Vesse G. J. 1995. Transmural changes in mast cell density in rat heart after infarct induction *in vivo*. *J. Pathol.* 423—429.
- Facoetti A., Fallarini S., Miserere S., Bertolotti A., Ferrero I., Tozzi R., Gatti C., Palladini G., Perlini S., Nano R. 2006. Histochemical study of cardiac mast cells degranulation and collagen deposition: interaction with the catecholaminergic system in the rat. *Eur. J. Histochem.* 50 : 133—140.
- Forsgren K. S., Caven A. G., Hansson M. C., Larsson F. H., Kjorell U. K., Henriksson R. G., Franzen L. I. 2001. Irradiation-induced effects on mast cells, neuropeptides, and atrial natriuretic peptide in the rat heart and lung: bases for further studies. *Cancer Detect. Prev.* 25 : 80—92.
- Frangogiannis N. G., Perrard J. L., Mendoza L. H., Burns A. R., Lindsey M. Y., Ballantyne C. M., Michael L. H., Smith C. W., Entman M. L. 1998. Stem cell factor induction is associated with mast cell accumulation after canine myocardial ischemia and regeneration. *Circulation.* 98 : 687—698.
- Fujita M., Komeda M., Hasegawa K., Kihara Y., Nohara R., Sasayama S. 2001. Pericardial fluid as a new material for clinical research. *Int. J. Cardiol.* 77 : 113—118.
- Hansson M. 2002. Natriuretic peptides in relation to the cardiac innervation and conduction system. *Microsc. Res. Tech.* 58 : 378—386.
- Horkay F., Szokodi I., Stlmecei L., Merkely B., Kekesi V., Vecsey T., Vuolteenaho O., Ruskoaho H., Junasz-Nagy A., Toth M. 1998. Presence of immunoreactive endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in human pericardial fluid. *Life Sci.* 62 : 267—274.
- Ito T., Yoshimura M., Nakamura S., Nakayama M., Shimasaki Y., Harada E., Mizuno Y., Yamamuro M., Harada M., Saito Y., Nakao K., Kurihara H., Yasue H., Ogawa H. 2003. Inhibitory effect of natriuretic peptides on aldosterone synthase gene expression in cultured neonatal rat cardiocytes. *Circulation.* 107 : 807—810.
- Kishimoto I., Saito Y., Li Y., Nakao K. 2002. Cross-talk between the natriuretic peptide system and the angiotensin system. *Nippon Rinsho.* 60 : 1923—1928.
- Kook H., Itoh H., Choi B. S., Sawada N., Doi K., Hwang T. J., Kim K. K., Arai H., Baik Y. H., Nakao K. 2003. Physiological concentration of atrial natriuretic peptides induces endothelial regeneration *in vitro*. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 284 : H1388—H1397.
- Kuwahara M., Kuwahara M. 1998. Pericardial mesothelial cells produce endothelin-1 and possess functional endothelin ETB receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 347 : 329—335.
- Marone G., Bova M., Detoraki A., Onorati A. M., Rossi F. M., Spadaro G. 2004. The human heart as a shock organ in anaphylaxis. *Novartis Found Symp.* 257 : 133—149.
- Marone G., de Crescenzo G., Florio G., Granata F., Dente V., Genovese A. 1999. Immunological modulation of human cardiac mast cells. *Neurochem. Res.* 24 : 1195—1202.
- Martynova M. G., Bystrova O. A., Moiseeva O. M., Evdovin A. L., Kondratov K. A., Medvedeva N. D. 2005. The presence of ANP in rat peritoneal mast cells. *Cell Res.* 15 : 811—816.
- Mazurek T., Zhang L., Zalewski A., Mannion J. D., Diehl J. T., Arafat H., Sarov-Blat L., O'Brien S., Keiper E. A., Johnson A. G., Martin J., Goldstein B. J., Shi Y. 2003. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation.* 108 : 2460—2466.
- Mebazaa A., Wetzel R. C., Dodd-o J. M., Redmond E. M., Shah A. M., Maeda K., Maistre G., Lakatta E. G., Robatham J. L. 1998. Potential paracrine role of the pericardium in the regulation of cardiac function. *Cardiovasc. Res.* 40 : 332—342.
- Miyazaki T., Pride H. P., Zipes D. P. 1990. Prostaglandins in the pericardial fluid modulate neural regulation of cardiac electrophysiological properties. *Circ. Res.* 66 : 163—175.
- Patella V., Marino I., Lamparter B., Arbustini E., Adt M., Marone G. 1995. Human heart mast cells. Isolation, purification, ultrastructure, and immunologic characterization. *J. Immunol.* 154 : 2855—2865.
- Powers M. J., Peterson B. A., Hardwick J. C. 2001. Regulation of parasympathetic neurons by mast cells and histamine in the guinea pig heart. *Auton Neurosci.* 87 : 37—45.
- Ren G., Dewald O., Frangogiannis N. G. 2003. Inflammatory mechanisms in myocardial infarction. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* 2 : 242—256.
- Riemann D., Wollert H. G., Menschikowski J., Mittenzwei S., Langner J. 1994. Immunophenotype of lymphocytes in pericardial fluid from patients with different forms of heart disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 104 : 48—56.
- Röhlich P., Csaba G. 1972. Alcian blue—safranin staining and ultrastructure of rat mast cell granules during degranulation. *Acta biol. Acad. sci. hung.* 23 : 83—89.
- Silver R. B., Reid A. C., Mackins C. J., Askwith T., Schaefer U., Herzlinger D., Levi R. 2004. Mast cells: a unique source of renin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 101 : 13 607—13 612.
- Soos P., Juhasz-Nagy A., Ruskoaho H., Hartyanszky I., Merkely B., Toth M., Horkay F. 2002. Locally different role of atrial natriuretic peptide (ANP) in the pericardial fluid. *Life Sci.* 71 : 2563—2573.
- Sperr W. R., Bankl H. C., Mundigler G., Klappacher G., Grosschmidt K., Agis H., Simon P., Laufer P., Imhof M., Radaszkiewicz T. 1994. The human cardiac mast cell: localization, isolation, phenotype, and functional characterization. *Blood.* 84 : 3876—3884.
- Spodick D. H. 2002. Microphysiology of the pericardium: substrate for intrapericardial therapeutics. *Herz.* 25 : 720—723.
- Spodick D. H. 2002. Intrapericardial therapy and diagnosis. *Curr. Cardiol. Rep.* 4 : 22—25.
- Szokodi I., Horkay F., Kiss P., Selmeci L., Merkely B., Kekesi V., Vuolteenaho O., Leppaluoto J., Ruskoaho H., Juhasz-Nagy A., Toth M. 1997. Characterization and stimuli for production of pericardial fluid atrial natriuretic peptide in dogs. *Life Sci.* 61 : 1349—1359.
- Wen S. J. 1992. A study of immunocompetence of peptide hormones in human pericardium. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* 20 : 240—242.
- Yoneda T., Fujita M., Kihura Y., Hasegawa K., Sawamura T., Tanaka T., Inanami M., Nohara R., Sasayama S. 2000. Pericardial fluid from patients with ischemic heart disease accelerates the growth of human vascular smooth muscle cells. *Jap. Circ. J.* 64 : 495—498.
- Yoshida H., Inagaki Y., Yamaki K., Beppu Y., Kawashima T., Takagi K. 1996. Histamine release induced by human natriuretic peptide from rat peritoneal mast cells. *Regul. Pept.* 61 : 45—49.

IMMUNOLocalIZATION OF ANP IN MAST CELLS OF RAT AND HUMAN PERICARDIUM

M. G. Martynova,¹ E. V. Nakatseva,² M. I. Yemelyanova,¹ O. M. Moiseeva,² I. L. Erokhina¹

¹ Institute of Cytology RAS and ² V. A. Almasov's Research Institute of Cardiology, St. Petersburg;
e-mail: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru

It is known that many heart diseases are accompanied by a significant increase in the level of atrial natriuretic peptide (ANP), a regulator of cardiovascular homeostasis, in the pericardial fluid. Cellular sources of ANP in pericardial cavity remain uncertain. By EM immunocytochemistry, we have examined the presence and localization of ANP in rat and human pericardium. ANP-immunoreactive material was revealed in granules of mast cells (MCs) situated in connective tissue of the pericardium. MCs have an oval form and measure about 6.5×12.5 and $9.1 \times 13.6 \mu\text{m}$ in the rat and human pericardium, respectively. Density of MC population makes up about 50 and 10 cells/mm² in the rat and human pericardium, respectively. Our data suggest possible participation of the pericardial MCs in endocrine function of pericardium and in control of the ANP level in pericardial cavity.

Key words: ANP, immunocytochemistry, pericardium, mast cell.
