

ПРЕДСЕРДНЫЙ И МОЗГОВОЙ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ СЕКРЕТОРНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

DOI: 10.17691/stm2016.8.3.05

УДК 577.112.6:616.12.001.6–008.331

Поступила 26.04.2016 г.

© **М.В. Галкина**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии ЦНИЛ;
Л.Б. Снопова, д.б.н., доцент, зав. отделом морфологии ЦНИЛ;
Н.Н. Проданец, к.б.н., старший научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ;
Р.Д. Лапшин, к.б.н., доцент, зав. отделом экспериментального моделирования ЦНИЛ;
И.И. Белоусова, к.б.н., научный сотрудник отдела экспериментального моделирования ЦНИЛ;
Д.А. Абросимов, ассистент кафедры гистологии с цитологией и эмбриологией;
М.Л. Бугрова, к.б.н., доцент, зав. отделом электронной микроскопии ЦНИЛ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — оценить воздействие солевой нагрузки на продукцию предсердного (ПНП) и мозгового (МНП) натрийуретических пептидов в гранулах секреторных кардиомиоцитов крыс.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 14 белых аутбредных самцах крыс линии Wistar массой 280–300 г. Все животные во время эксперимента получали стандартный рацион, имели свободный доступ к корму и воде. Раствор NaCl вводили *per os* в дозе 1 г/кг массы тела на протяжении 14 дней. Измеряли артериальное давление (АД) неинвазивным способом, используя хвостовую манжету. Методами световой иммуногистохимии, трансмиссионной электронной микроскопии, иммуноцитохимии исследовали продукцию ПНП и МНП в предсердных кардиомиоцитах крыс. Осуществляли морфометрию гранул, содержащих пептиды (А-тип — «зрелые, запасающие» и В-тип — «растворяющиеся»).

Результаты. Установлено увеличение количества гранул с ПНП и снижение количества гранул с МНП через 14 дней приема NaCl на фоне повышения АД по сравнению с интактными животными.

Заключение. Регуляция метаболизма натрийуретических пептидов осуществляется разными механизмами. Раннее выделение МНП не способствует снижению АД из-за нарушения компенсаторного механизма при формировании артериальной гипертензии, вызванной солевой диетой. Увеличение продукции ПНП происходит под воздействием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и повышенного АД. Полученные результаты могут свидетельствовать об адаптивной реакции в ответ на солевую нагрузку.

Ключевые слова: предсердный натрийуретический пептид; ПНП; мозговой натрийуретический пептид; МНП; солевая нагрузка.

Как цитировать: Galkina M.V., Snopova L.B., Prodanets N.N., Lapshin R.D., Belousova I.I., Abrosimov D.A., Bugrova M.L. Atrial and brain natriuretic peptides of secretory cardiomyocytes in salt-loading in experiment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(3): 49–55, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2016.8.3.05>

English

Atrial and Brain Natriuretic Peptides of Secretory Cardiomyocytes in Salt Loading in Experiment

M.V. Galkina, PhD, Senior Researcher, Electron Microscopy Unit, Central Scientific Research Laboratory;
L.B. Snopova, DSc, Associate Professor, Head of Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory;
N.N. Prodanets, PhD, Senior Researcher, Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory;
R.D. Lapshin, PhD, Associate Professor, Head of Experimental Modeling Department, Central Scientific Research Laboratory;
I.I. Belousova, PhD, Researcher, Experimental Modeling Department, Central Scientific Research Laboratory;
D.A. Abrosimov, Tutor, Department of Histology with Cytology and Embryology;
M.L. Bugrova, PhD, Associate Professor, Head of Electron Microscopy Unit, Central Scientific Research Laboratory

Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

Для контактов: Галкина Мария Владимировна, e-mail: maryrax82@gmail.com

The aim of the investigation is to assess the influence of salt load on atrial (ANP) and brain (BNP) natriuretic peptide production in granules of secretory cardiomyocytes in rats.

Materials and Methods. The experiments were carried out on 14 white out-bred male Wistar rats weighing 280–300 g. During the experiment all the animals were treated with standard-feed diet and had unlimited access to food and water. NaCl solution was introduced *per os* in the dose of 1 g per 1 kg of body mass during 14 days. Arterial pressure (AP) was measured noninvasively using a tail-cuff method. ANP and BNP production of atrial cardiomyocytes was studied by means of immunohistochemistry, transmission electron microscopy, immunocytochemistry. There was performed a morphometric analysis of granules containing peptides (A-type — “mature, storing” and B-type — “dissolving”).

Results. Increase in the number of granules with ANP and decrease in those with BNP accompanied by elevated AP was revealed 14 days after NaCl intake as compared to intact animals.

Conclusion. Natriuretic peptides metabolism is regulated by various mechanisms. Early BNP release does not promote AP reduction due to compensatory mechanism disturbance in salt-induced arterial hypertension. Increase in ANP production occurs under the influence of renin-angiotensin-aldosterone system and elevated AP. The present data can indicate adaptive reaction in response to salt loading.

Key words: atrial natriuretic peptide; ANP; brain natriuretic peptide; BNP; salt loading.

Предсердный (ПНП) и мозговой (МНП) натрийуретические пептиды — это биоактивные вещества, образующиеся в сердце, которые оказывают натрийуретический, сосудорасширяющий, гипотензивный эффекты и являются антагонистами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [1, 2]. Гормоны имеют сходную молекулярную структуру, рецепторный аппарат и механизмы действия [3, 4]. Исследователями отмечено увеличение выделения натрийуретических пептидов в кровь при артериальной гипертензии (АГ), причем величина их плазменной концентрации прямо коррелирует с тяжестью сердечной дисфункции [5–8]. Тем не менее роль данных пептидов в развитии, патогенезе и течении АГ до сих пор до конца не ясна [9, 10].

Хорошо изучена взаимосвязь артериального давления (АД) с солевой нагрузкой. Установлено, что у одних людей и экспериментальных животных употребление соли легко вызывает повышение АД, у других не оказывает эффекта [11–13]. Высокая чувствительность к приему NaCl выражается в виде значительного изменения АД и служит фактором риска развития АГ, инфаркта миокарда, инсульта [14, 15]. Обнаружение такой восприимчивости в клинике позволяет в короткий срок назначить пациентам наиболее эффективное лечение. Экспериментальные исследования в данном направлении обусловлены поиском новых критериев ранней диагностики АГ [16, 17]. Изучение натрийуретических пептидов при солевой нагрузке вносит вклад в понимание патогенеза данного заболевания [18].

Чаще всего ПНП и МНП изучают биохимическими методами [8, 19–22]. При этом их плазменный уровень не всегда совпадает с количественными характеристиками пептидов в сердце [23]. Применение метода подсчета иммуномеченых гранул разного типа позволяет оценить вклад ПНП и МНП предсердий в поддержание сердечно-сосудистого гомеостаза в условиях патологии. Следует отметить, что наибольшую значимость представляют работы, где анализируются оба гормона [24, 25].

Цель исследования — оценить воздействие солевой нагрузки на продукцию предсердного и мозгового натрийуретических пептидов в гранулах секреторных кардиомиоцитов крыс.

Материалы и методы. Исследования проведены в соответствии с правилами лабораторной практики на 14 белых аутбредных крысах-самцах линии Wistar массой 280–300 г. Работа выполнена в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Все крысы во время эксперимента получали стандартный рацион, имели свободный доступ к корму и воде и находились в условиях искусственного двенадцатичасового дня. Контрольную группу (n=8) составили интактные животные. В экспериментальной группе (n=6) крысам вводили раствор NaCl *per os* в дозе 1 г/кг массы тела на протяжении 14 дней. АД измеряли неинвазивным способом с помощью прибора NonInvasive Blood Pressure Meter LE5001 (Panlab, Испания), используя хвостовую манжету, до введения соли и через 14 сут. Животных выводили из эксперимента методом декапитации. Материал для дальнейшего изучения брали через 14 сут после измерения АД.

Для подтверждения специфичности реакции антител проводили иммуногистохимическое исследование образцов ткани правого предсердия интактных крыс. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 48 ч, промывали в проточной водопроводной воде, обезжировали в этиловом спирте восходящей концентрации и заключали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм получали на санном микротоме Leica SM 2000R (Leica Microsystems, Германия). Восстановление антигенной активности осуществляли методом теплового демаскирования в цитратном буфере с pH=6,0 (Novocastra, Laboratories, Великобритания) [26]. Для визуализации ПНП и МНП использовали первичные

поликлональные антитела к ПНП — Rabbit anti-Atrial Natriuretic Factor (1-28) (rat) с рабочим разведением 1:50 и МНП — Rabbit anti-Brain Natriuretic Peptide-32 (Rat) Serum с рабочим разведением 1:100 (Peninsula Lab. Inc., Wacem, США). В качестве системы детекции применяли Peroxidase detection system (Novocastra, Laboratories, Великобритания) в соответствии с рекомендациями производителя. Негативный контроль выполнялся путем исключения первичных антител.

Электронно-микроскопический анализ образцов ткани правого предсердия интактных и экспериментальных животных проводили по стандартной методике. Материал фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (pH=7,4) и в 1% растворе OsO₄ с последующей заливкой в смесь эпона с аралдитом [27]. Клеточную локализацию ПНП и МНП выявляли на ультратонких срезах с помощью указанных выше первичных поликлональных антител к ПНП и МНП. В качестве вторых антител использовали белок А, конъюгированный с коллоидным золотом (диаметр частиц — 15 нм) — Protein-A/Gold, 15 nm (EM Grade, Electron Microscopy Sciences, США) [9]. Для каждого пептида реакции проводили отдельно. Контролем служили срезы, обработанные только вторыми антителами. Контрастирование осуществляли уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе Morgagni 268D (FEI, США) с использованием программы AnalySIS.

Количественный анализ двух типов гранул с пептидами в предсердных кардиомиоцитах (А-тип — «зрелые, запасующие» и В-тип — «растворяющиеся») выполняли подсчетом в полях зрения (38×38 мкм) [24, 28].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0 с применением критерия Вилкоксона и теста Манна–Уитни.

Результаты. Через 14 сут в экспериментальной группе наблюдалось изменение АД по сравнению с исходными величинами: у одних животных (n=3) произошло повышение АД с 98 до 105 мм рт. ст., у других (n=3) — снижение с 98 до 84 мм рт. ст. (p<0,05). В настоящем исследовании для дальнейшего изучения были взяты животные с достоверно повышенным давлением на 10% от интактных.

Иммунореактивность для ПНП и МНП была выявлена в правом предсердии у интактных крыс, с преимущественной локализацией в перинуклеарной зоне кардиомиоцитов. Причем реакция с ПНП (рис. 1, а) была более интенсивной, чем с МНП (рис. 1, б).

При электронно-микроскопическом анализе правого предсердия животных из экспериментальной группы выявлены следующие изменения структуры кардиомиоцитов. В ядре преобладал зухроматин со слабовыраженной агрегацией по периферии, в большинстве — с отсутствием ядрышек. Кариолема была ровная или с неглубокими инвагинациями (рис. 2). В саркоплазме визуально выявлялось значительное содержание цитоплазматических гранул. Цистерны

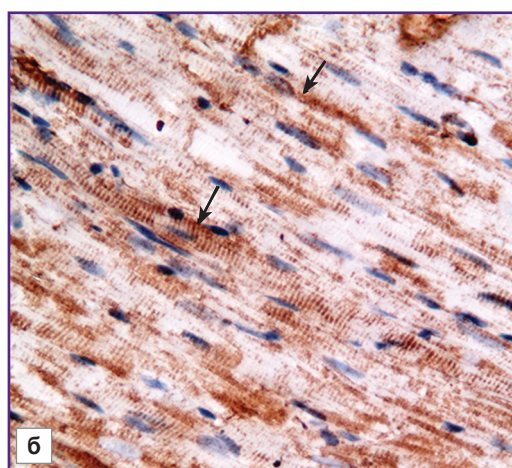
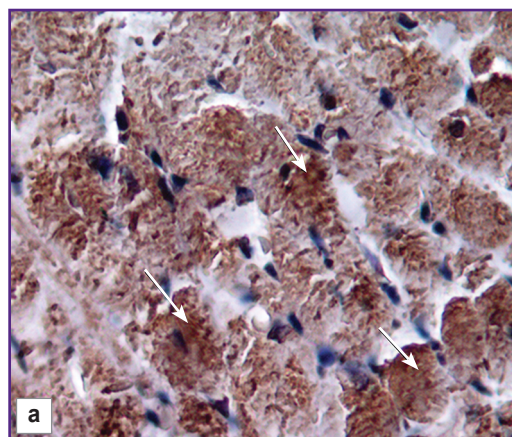


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание предсердного натрийуретического пептида (а) и мозгового натрийуретического пептида (б) в кардиомиоцитах правого предсердия интактных крыс (стрелки); ×400

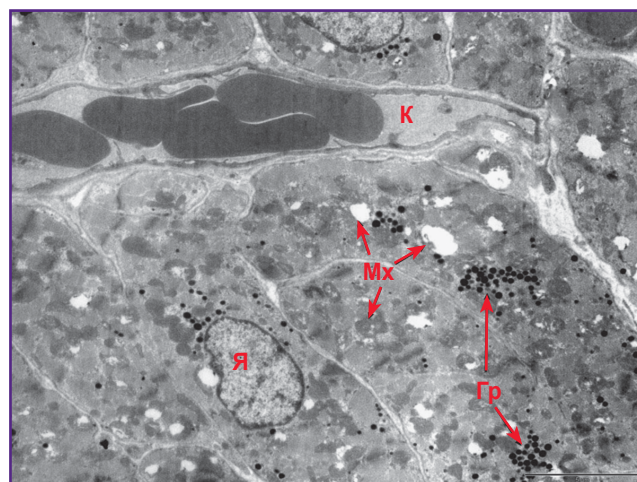


Рис. 2. Ультраструктура миокарда правого предсердия через 14 сут солевой нагрузки: Гр — гранулы; К — капилляр; Мх — митохондрии; Я — ядро; ×3500

саркоплазматического ретикулума не были расширены. Преобладали набухшие митохондрии, с просветленным матриксом, дезориентацией и фрагмента-

цией крист, встречались также единичные гигантские митохондрии. Миофибриллы в большинстве кардиомиоцитов четко определялись. Саркоlemma в целом была без видимых изменений, местами образовывала складки, изредка обнаруживались участки ее истончения. Выявлялся умеренный межклеточный отек (рис. 3).

Через 2 нед солевой нагрузки обнаружены разные морфометрические изменения гранул секреторных кардиомиоцитов правого предсердия, содержащих иммунореактивный материал. Выявлено увеличение количества гранул с ПНП А-типа на 79% и В-типа — на 128%, их общего количества — на 200%. При этом доля типов А и В составила 58 и 42% соответственно, у интактных животных — 63 и 37%. Количество гранул, содержащих МНП, было снижено относительно интактной группы: тип А — на 60%, тип В — на 52%, общее количество — на 43%. Доля А- и В-типов составила 64 и 36% соответственно, у интактных животных — 68 и 32% (см. таблицу).

Обсуждение. Выявленное нами разделение экспериментальных животных по изменению АД на две группы подтверждает литературные данные о фак-

тах солечувствительности [29, 30]. Восприимчивость к NaCl обусловлена особенностями функции почек, нарушением деятельности симпатической нервной системы, синтеза простагландинов, активности РААС [31–33]. В работе изучалась группа солечувствительных животных с повышенным АД.

Известно, что ответ ПНП и МНП на влияние различных факторов (ишемия, АГ) и изменения их концентраций в плазме крови во многом близки [1, 9, 34]. Это можно объяснить тем, что оба пептида имеют сходное строение и механизм действия, используют одни и те же клеточные рецепторы для реализации своих эффектов, совместно хранятся в гранулах секреторных кардиомиоцитов [24, 35]. Однако в научной литературе появляется информация о различиях в свойствах ПНП и МНП при сердечно-сосудистой патологии [5, 6, 36]. В нашем исследовании установлена разнонаправленная реакция пептидов в миоцитах правого предсердия крыс при воздействии соли.

В экспериментальной группе увеличение зрелых и растворяющихся форм гранул с ПНП относительно интактных животных свидетельствовало об активном накоплении и высвобождении гормона, при этом соотношение типов А и В указывало на смещение процессов в сторону его выделения. Установлено [37], что солевая нагрузка, как и повышение АД, является фактором, стимулирующим гипергрануляцию предсердных миоцитов и секрецию ПНП. Авторами работы [38] выявлено увеличение АД на 40%, гранул с пептидом — на 351% и плазменного уровня гормона — на 100% у мышей C57BL/6 (модель мышей с человеческим метаболическим синдромом) после 9 нед приема NaCl. Клинические исследования демонстрируют, что солевая нагрузка активирует РААС в почках [39–42]. По-видимому, активация РААС наряду с увеличенным АД является основным стимулом, влияющим на аккумуляцию и выведение ПНП у экспериментальных животных.

Анализ иммуномеченых гранул с МНП в нашем исследовании выявил снижение процессов его накопления и выделения. В соответствии с литературными данными об активации МНП в ответ на развитие сердечно-сосудистой патологии [43–45] это может свидетельствовать о раннем выделении гормона. По-видимому, оно направлено на снижение АД. Однако в экспериментальной группе мы наблюдали его увеличение. В научной литературе и клинической практике до сих пор нет ответа на возникающий при гипертензии «гормональный парадокс»: высокие концентрации натрийуретических пептидов не оказывают гипотензивного эффекта [18]. Одной из причин считается снижение плотности рецепторов к натрийуретическим гормо-

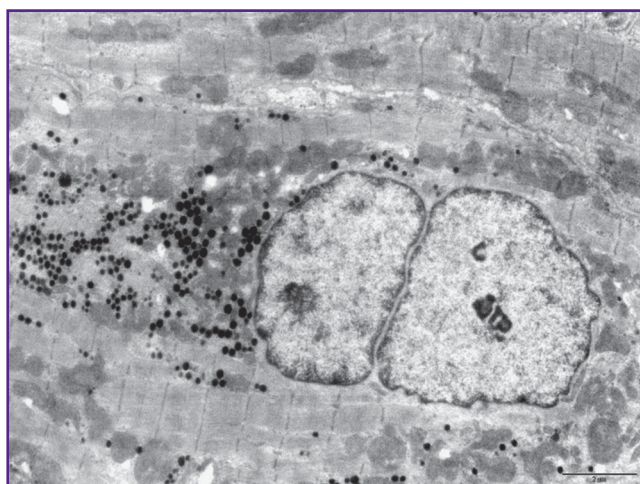


Рис. 3. Секреторные гранулы в кардиомиоците правого предсердия через 14 сут солевой нагрузки; $\times 5600$

Соотношение гранул А- и В-типов, содержащих предсердный натрийуретический пептид и мозговой натрийуретический пептид, в предсердных миоцитах крыс после солевой нагрузки

| Варианты опыта | Гранулы, содержащие ПНП | | Гранулы, содержащие МНП | |
|---------------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|
| | Тип А | Тип В | Тип А | Тип В |
| Интактные животные (n=8) | 65,75±19,50 63% | 38,90±19,63 37% | 16,00±5,43 68% | 7,53±2,69 32% |
| 14 дней солевой нагрузки, (n=3) | 117,96±33,5* 58% | 88,83±28,06* 42% | 6,42±3,42* 64% | 3,65±2,79* 36% |

* — различия значений статистически значимы относительно интактных животных, $p < 0,05$.

нам [46], но достоверных доказательств не найдено. Исследователями отмечено, что нормальный компенсаторный механизм контроля АД натрийуретическими пептидами подавляется высокосолевым диетой [38] в связи с изменениями в почках [47, 48]. Тем самым и объясняется отсутствие гипотензивного эффекта раннего выброса МНП и большого количества ПНП через 14 сут нашего эксперимента.

Авторами работы [49] показана важная роль ионов Ca^{2+} в формировании реакций МНП. Через кальциевый унипортер (mitochondrial calcium uniporter), расположенный на мембране митохондрий, происходит повышенный ток ионов Ca^{2+} в их матрикс, приводящий к гибели клетки. МНП оказывает ингибирующее действие на этот канал, тем самым предотвращая гибель кардиомиоцитов [50]. Отсутствие выраженных изменений в ультраструктуре правого предсердия, отмеченное в настоящей работе, может быть связано с кардиопротекторным действием МНП, выделенным в более ранние сроки эксперимента. В то же время деструктивные изменения в митохондриях могут свидетельствовать о нарушении синтеза макроэргических соединений, что приводит к снижению образования и выведения МНП. Достоверно установлено [3], что усиление транспорта ионов Ca^{2+} способствует увеличению синтеза и формированию секреторных гранул с ПНП, и это подтверждает обнаруженное нами увеличение общего количества гранул с ПНП через 14 дней.

Проведенное исследование выявило различную реакцию натрийуретических пептидов в условиях солевой диеты. У солечувствительной линии крыс DOCA через 2 нед показано увеличение плазменного уровня ПНП, в то время как уровень МНП не изменялся, при этом экспрессия мРНК обоих пептидов в миокарде не отличалась от контроля [36]. Согласно гипотезе [51], стимулом для синтеза и выделения натрийуретических пептидов являются не только увеличение объема жидкости, АД, гипертрофия или аритмия, но и кислородный градиент [51] и изменение энергетического метаболизма миокарда [52, 53]. По-видимому, солевая нагрузка вызывает в кардиомиоцитах правого предсердия смещение вышеуказанных факторов, которые по-разному влияли на ПНП и МНП в наших экспериментах.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о разнонаправленной реакции пептидов в гранулах миоцитов правого предсердия крыс при воздействии соли. Вероятно, наблюдаемые нами снижение продукции МНП и увеличение накопления и выделения ПНП указывают на адаптивную реакцию сердца в условиях солевой диеты.

Заключение. Регуляция метаболизма натрийуретических пептидов осуществляется разными механизмами. Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что раннее выделение мозгового натрийуретического пептида не способствует снижению АД из-за нарушения компенсаторного механизма при формиро-

вании артериальной гипертензии, вызванной солевой диетой. Увеличение продукции предсердного пептида происходит под воздействием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и повышенного АД.

Финансирование исследования. Работа выполнена в рамках ведомственной НИР Министерства здравоохранения РФ 2015–2017 гг. «Механизмы регуляции физиологических функций при экспериментальных состояниях организма».

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Ogawa T., de Bold A. The heart as an endocrine organ. *Endocr Connect* 2014; 3(2): R31–R44, <http://dx.doi.org/10.1530/EC-14-0012>.
2. Ichiki T., Huntley B.K., Sangaralingham S.J., Burnett J.C. Jr. Pro-atrial natriuretic peptide: a novel guanylyl cyclase-A receptor activator that goes beyond atrial and B-type natriuretic peptides. *JACC Heart Fail* 2015; 3(9): 715–723, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchf.2015.03.015>.
3. de Bold A.J. Thirty years of research on atrial natriuretic factor: historical background and emerging concepts. *Can J Physiol Pharmacol* 2011; 89(8): 527–531, <http://dx.doi.org/10.1139/y11-019>.
4. Kuhn M. Cardiac actions of atrial natriuretic peptide: new visions of an old friend. *Circ Res* 2015; 116(8): 1278–1280, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306325>.
5. Nishikimi T., Kuwahara K., Nakao K. Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides. *J Cardiol* 2011; 57(2): 131–140, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jjcc.2011.01.002>.
6. Zhou Y., Wu Q. Corin in natriuretic peptide processing and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2014; 16(2): 415, <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-013-0415-7>.
7. Arora P., Reingold J., Baggish A., Guanaga D.P., Wu C., Ghorbani A., Song Y., Chen-Tournaux A., Khan A.M., Tainsh L.T., Buys E.S., Williams J.S., Heublein D.M., Burnett J.C., Semigran M.J., Bloch K.D., Scherrer-Crosbie M., Newton-Cheh C., Kaplan L.M., Wang T.J. Weight loss, saline loading, and the natriuretic peptide system. *J Am Heart Assoc* 2015; 4(1): e001265, <http://dx.doi.org/10.1161/JAHA.114.001265>.
8. Ogawa N., Komura H., Kuwasako K., Kitamura K., Kato J. Plasma levels of natriuretic peptides and development of chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 2015; 16: 171, <http://dx.doi.org/10.1186/s12882-015-0163-9>.
9. Galkina M.V., Baskina O.S., Bugrova M.L. The study of synthesis, accumulation and release processes of atrial and brain natriuretic peptides in experimental renovascular hypertension. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2015; 7(2): 33–40, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2015.7.2.04>.
10. Бугрова М.Л. Исследование предсердного натрийуретического пептида при артериальной гипертензии разного генеза в эксперименте. Морфологические ведомости 2015; 2: 28–34. Bugrova M.L. The study of atrial natriuretic peptide in different types of arterial hypertension in experiment. *Morfologicheskie vedomosti* 2015; 2: 28–34.
11. Арутюнов Г.П., Соколова А.В., Оганезова Л.Г. Экспериментальные модели поражения тубулоинтерстициальной ткани почек при артериальной гипертензии. Клиническая

нефрология 2011; 2: 75–78. Arutiunov G.P., Sokolova A.V., Oganeseva L.G. Experimental models of renal tubulointerstitial damage in arterial hypertension. *Klinicheskaya nefrologiya* 2011; 2: 75–78.

12. Laffer C.L., Laniado-Schwartzman M., Wang M.H., Nasjletti A., Elijovich F. 20-HETE and furosemide-induced natriuresis in salt-sensitive essential hypertension. *Hypertension* 2003; 41(3 Pt 2): 703–708, <http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.0000051888.91497.47>.

13. Ventura N.M., Peterson N.T., Tse M.Y., Andrew R.D., Pang S.C., Jin A.Y. Molecular adaptations in vasoactive systems during acute stroke in salt-induced hypertension. *Mol Cell Biochem* 2015; 399(1–2): 39–47, <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-014-2230-0>.

14. Aaron K.J., Sanders P.W. Role of dietary salt and potassium intake in cardiovascular health and disease: a review of the evidence. *Mayo Clin Proc* 2013; 88(9): 987–995, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.06.005>.

15. Richardson S.I., Freedman B.I., Ellison D.H., Rodriguez C.J. Salt sensitivity: are view with a focus on non-Hispanic blacks and Hispanics. *J Am Soc Hypertens* 2013; 7(2): 170–179, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jash.2013.01.003>.

16. Weinberger M.H. Salt sensitivity is associated with an increased mortality in both normal and hypertensive humans. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2002; 4(4): 274–276, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1524-6175.2002.00924.x>.

17. Смирнова М.И., Оганов Р.Г., Горбунов В.М., Деев А.Д., Андреева Г.Ф. Скрытая неэффективность лечения артериальной гипертензии: частота и предикторы. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011; 10(6): 11–17. Smirnova M.I., Oganov R.G., Gorbunov V.M., Deev A.D., Andreeva G.F. Masked inefficacy of arterial hypertension treatment: prevalence and predictors. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika* 2011; 10(6): 11–17.

18. Максимов В.Ф., Коростышевская И.М., Курганов С.А., Маркель А.Л., Руденко Н.С., Якобсон Г.С. Изменения миоэндокринных клеток правого предсердия у крыс при гипертензии и после снижения артериального давления. Цитология 2014; 56(10): 725–734. Maksimov V.F., Korostyshevskaya I.M., Kurganov S.A., Markel' A.L., Rudenko N.S., Iakobson G.S. Changes of right atrial myoendocrine cells during hypertension and after arterial pressure decrease. *Tsitologiya* 2014; 56(10): 725–734.

19. Torres-Courchoud I., Chen H.H. B-type natriuretic peptide and acute heart failure: fluid homeostasis, biomarker and therapeutics. *Rev Clin Esp* 2016; pii: S0014–2565(16)00025–4, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rce.2016.01.009>.

20. Tripathi R., Wang D., Sullivan R., Fan T.H., Gladysheva I.P., Reed G.L. Depressed corin levels indicate early systolic dysfunction before increases of atrial natriuretic peptide/B-type natriuretic peptide and heart failure development. *Hypertension* 2016; 67(2): 362–367, <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06300>.

21. Hu W., Zhou P.H., Zhang X.B., Xu C.G., Wang W. Plasma concentrations of adrenomedullin and natriuretic peptides in patients with essential hypertension. *Exp Ther Med* 2015; 9(5): 1901–1908, <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2015.2345>.

22. Macheret F., Heublein D., Costello-Boerrigter L.C., Boerrigter G., McKie P., Bellavia D., Mangiafico S., Ikeda Y., Bailey K., Scott C.G., Sandberg S., Chen H.H., Malatino L., Redfield M.M., Rodeheffer R., Burnett J. Jr., Cataliotti A. Human hypertension is characterized by a lack of activation

of the antihypertensive cardiac hormones ANP and BNP. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60(16): 1558–1565, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2012.05.049>.

23. Mifune H., Nishi Y., Tajiri Y., Yabuki A. Different A-type natriuretic peptide level in five strains of mice. *J Vet Med Sci* 2012; 74(4): 499–502, <http://doi.org/10.1292/jvms.11-0451>.

24. Abrosimov D.A., Yakovleva E.I., Bugrova M.L. Quantitative assay of brain natriuretic peptide in rat cardiomyocytes in the early postreperfusion period. *Cell and Tissue Biology* 2015; 9(4): 336–339, <http://dx.doi.org/10.1134/s1990519x15040021>.

25. Sato M., Mikamo A., Kurazumi H., Suzuki R., Murakami M., Kobayashi T., Yoshimura K., Hamano K. Ratio of preoperative atrial natriuretic peptide to brain natriuretic peptide predicts the outcome of the maze procedure in mitral valve disease. *J Cardiothorac Surg* 2013; 8: 32, <http://dx.doi.org/10.1186/1749-8090-8-32>.

26. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань; 2000; 287 с. Petrov S.V., Raykhlin N.T. *Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoy diagnostike opukholey cheloveka* [Guide to immunohistochemical diagnosis of human tumors]. Kazan; 2000; 287 p.

27. Бисерова Н.М. Методы визуализации биологических ультраструктур. Подготовка биологических объектов для изучения с помощью электронных и флуоресцентных конфокальных лазерных микроскопов. М: Товарищество научных изданий КМК; 2013; 104 с. Biserova N.M. *Metody vizualizatsii biologicheskikh ul'trastruktur. Podgotovka biologicheskikh ob'ektov dlya izucheniya s pomoshch'yu elektronnykh i fluorestsennykh konfokal'nykh lazernykh mikroskopov* [Imaging methods of biological ultrastructures. Preparation of biological objects for the study using electron and fluorescent confocal laser microscopes]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2013; 104 p.

28. Рахчеева 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; 52(8): 629–633. Rakhcheeva M.V., Bugrova M.L. Changes in the proportion of A- and B-types of granules containing atrial and brain natriuretic peptides in atrial myocytes in vasorenal hypertension in rats. *Tsitologiya* 2010; 52(8): 629–633.

29. Бабкин А.П., Гладких В.В., Курба Т.Л. Солечувствительность артериальной гипертензии как предиктор эффективности антигипертензивной терапии. Международный медицинский журнал 2010; 16(3): 49–52. Babkin A.P., Gladkikh V.V., Kurbatova T.L. Salt sensitivity of arterial hypertension as a predictor of antihypertensive therapy efficacy. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal* 2010; 16(3): 49–52.

30. Felder R.A., White M.J., Williams S.M., Jose P.A. Diagnostic tools for hypertension and salt sensitivity testing. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22(1): 65–76, <http://dx.doi.org/10.1097/MNH.0b013e32835b3693>.

31. Волков В.С., Поселюгина О.Б., Нилова С.А., Роккина С.А. Уровень артериального давления и потребление поваренной соли у больных артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия 2011; 17(1): 69–73. Volkov V.S., Poselyugina O.B., Nilova S.A., Rokkina C.A. Blood pressure level and salt intake in hypertensive patients. *Arterial'naya gipertenziya* 2011; 17(1): 69–73.

32. Осипова И.В., Мирошниченко А.И., Пырикова Н.В.,

Антропова О.Н., Куликов В.П., Алексенцева А.В. Долгосрочная вариабельность артериального давления и факторы риска у мужчин со стресс-индуцированной артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия* 2014; 20(2): 92–100. Osipova I.V., Miroshnichenko A.I., Pyrikova N.V., Antropova O.N., Kulikov V.P., Aleksentseva A.V. Long-term variability of blood pressure and risk factors in men with stress-induced hypertension. *Arterial'naya gipertenziya* 2014; 20(2): 92–100.

33. Armstrong D.W., Tse M.Y., O'Tierney-Ginn P.F., Wong P.G., Ventura N.M., Janzen-Pang J.J., Matangi M.F., Johri A.M., Croy B.A., Adams M.A., Pang S.C. Gestational hypertension in atrial natriuretic peptide knockout mice and the developmental origins of salt-sensitivity and cardiac hypertrophy. *Regul Pept* 2013; 186: 108–115, <http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2013.08.006>.

34. Бугрова М.Л. Предсердный и мозговой натрийуретические пептиды миоцитов правого предсердия крыс в постреперфузионном периоде. *Цитология* 2016; 58(2): 129–134. Bugrova M.L. Atrial and brain natriuretic peptides of cardiac muscle cells in postreperfusion period in rats. *Tsitologiya* 2016; 58(2): 129–134.

35. Armaly Z., Assady S., Abassi Z. Corin: a new player in the regulation of salt-water balance and blood pressure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22(6): 713–722, <http://dx.doi.org/10.1097/01.mnh.0000435609.35789.32>.

36. Cavallero S., González G.E., Seropian I.M., Cerrudo C.S., Matorra F., Morales C., Hertig C.M., Puyó A.M., Fernández B.E., Gelpi R.J. Ventricular function and natriuretic peptides in sequentially combined models of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298(4): H1290–H1299, <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00911.2009>.

37. Селиванова Г.В., Власова Т.Д., Хирманов В.Н., Крутиков А.Н. Изменения цитохимических и морфометрических характеристик миоцитов правых отделов сердца крысы при адrenaлрегенеративной гипертензии. *Цитология* 1995; 37(5–6): 415–423. Selivanova G.V., Vlasova T.D., Khirmanov V.N., Krutikov A.N. Changes in the cytochemical and morphometric characteristics of the myocytes in the right heart of the rat in adrenal-regeneration hypertension. *Tsitologiya* 1995; 37(5–6): 415–423.

38. Costa M.V., Fernandes-Santos C., Faria T. da S., Aguilá M.B., Mandarim-de-Lacerda C.A. Diets rich in saturated fat and/or salt differentially modulate atrial natriuretic peptide and renin expression in C57BL/6 mice. *Eur J Nutr* 2012; 51(1): 89–96, <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-011-0196-1>.

39. Kobori H., Nishiyama A., Abe Y., Navar L.G. Enhancement of intra renal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats on high salt diet. *Hypertension* 2003; 41(3): 592–599, <http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.0000056768.03657.B4>.

40. Bayorh M.A., Ganafa A.A., Emmett N., Socci R.R., Eatman D., Fridie I.L. Alterations in aldosterone and angiotensin II levels in salt-induced hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2005; 27(4): 355–367, <http://dx.doi.org/10.1081/ceh-57423>.

41. Le Corvoisier P., Adamy C., Sambin L., Crozatier B., Berdeaux A., Michel J.B., Hittinger L., Su J. The cardiac renin-

angiotensin system is responsible for high-salt diet-induced left ventricular hypertrophy in mice. *Eur J Heart Fail* 2010; 12(11): 1171–1178, <http://dx.doi.org/10.1093/eurjhf/hfq146>.

42. Tamura K., Chiba E., Yokoyama N., Sumida Y., Yabana M., Tamura N., Takasaki I., Ishii M., Horiuchi M., Umemura S. Renin-angiotensin system and fibronectin gene expression in Dahl Iwai salt-sensitive and salt-resistant rats. *J Hypertens* 1999; 17(1): 81–89, <http://dx.doi.org/10.1097/00004872-199917010-00013>.

43. Temsah R., Nemer M. GATA factors and transcriptional regulation of cardiac natriuretic peptide genes. *Regul Pept* 2005; 128(3): 177–178, <http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2004.12.026>.

44. Vuolteenaho O., Ala-Kopsala M., Ruskoaho H. BNP as a biomarker in heart disease. *Adv Clin Chem* 2005; 40: 1–36, [http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2423\(05\)40001-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2423(05)40001-3).

45. Bramham K., Seed P.T., Lightstone L., Nelson-Piercy C., Gill C., Webster P., Poston L., Chappell L.C. Diagnostic and predictive biomarkers for pre-eclampsia in patients with established hypertension and chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016; 89(4): 874–885, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2015.10.012>.

46. Goetze J.P. Biosynthesis of cardiac natriuretic peptides. *Results Probl Cell Differ* 2010; 50: 97–120, http://dx.doi.org/10.1007/400_2009_25.

47. Yuan K., Kim S.Y., Oh Y.B., Yu J., Shah A., Park B.H., Kim S.H. Upregulation of ANP and NPR-C mRNA in the kidney and heart of eNOS knockout mice. *Peptides* 2010; 31(7): 1319–1325, <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2010.04.008>.

48. Ахмедханова А.А. Особенности реакции почек на водно-солевую нагрузку у спинальных животных. *Нефрология и диализ* 2003; 5(3): 249. Akhmedkhanova A.A. Features of kidney response on water and salt load in spinal animals. *Nefrologiya i dializ* 2003; 5(3): 249.

49. Sun Y., Deng T., Lu N., Yan M., Zheng X. B-type natriuretic peptide protects cardiomyocytes at reperfusion via mitochondrial calcium uniporter. *Biomed Pharmacother* 2010; 64(3): 170–176, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2009.09.024>.

50. Pan X., Liu J., Nguyen T., Liu C., Sun J., Teng Y., Fergusson M.M., Rovira I.I., Allen M., Springer D.A., Aponte A.M., Gucsek M., Balaban R.S., Murphy E., Finkel T. The physiological role of mitochondrial calcium revealed by mice lacking the mitochondrial calcium uniporter. *Nat Cell Biol* 2013; 15(12): 1464–1472, <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2868>.

51. Arjamaa O., Nikinmaa M. Hypoxia regulates the natriuretic peptide system. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 3(3): 191–201.

52. Casserly B., Pietras L., Schuyler J., Wang R., Hill N., Klinger J. Cardiac atria are the primary source of ANP release in hypoxia-adapted rats. *Life Sci* 2010; 87(11–12): 382–389, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2010.07.013>.

53. Fujii Y., Ishino K., Tomii T., Kanamitsu H., Fujita Y., Mitsui H., Sano S. Atrionatriuretic peptide improves left ventricular function after myocardial global ischemia-reperfusion in hypoxic hearts. *Artif Organs* 2012; 36(4): 379–386, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2011.01358.x>.