

И. Л. ЕРОХИНА

## ВКЛЮЧЕНИЕ Н<sup>3</sup>-ЛЕЙЦИНА В КЛЕТКИ ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ РАЗВИВАЮЩЕГОСЯ СЕРДЦА МЫШИ ПО ДАННЫМ АВТОРАДИОГРАФИИ

По многочисленным данным электронной микроскопии в специализированных клетках проводящей ткани сердца, по сравнению с миоцитами рабочего сокращающегося миокарда, значительно менее развит миофибрилярный аппарат клетки, что отчетливо выявляется как в процессе развития [7, 8, 11, 12], так и у взрослых животных [6, 10]. Вместе с тем, пролиферативная активность клеток проводящей системы ниже, чем клеток рабочего миокарда [2—4]. Это особенно резко выражено в эмбриогенезе, когда в рабочей мускулатуре желудочка и предсердия клетки размножаются высокими темпами. В эмбриональном и раннем постнатальном развитии в клетках проводящей ткани значительно ниже и интенсивность синтеза РНК [3]. В настоящей работе была сделана попытка оценить интенсивность синтеза белка параллельно в клетках проводящей ткани и рабочего миокарда и сопоставить ее с имеющимися данными по синтезу ДНК и РНК.

*Материал и методика.* Синтез белка по включению Н<sup>3</sup>-лейцина исследовали в сердце 15 и 18-суточных эмбрионов, 3, 6, 16-суточных и взрослых мышей (в большинстве случаев по 3—4 животных на точку). Н<sup>3</sup>-лейцин (Н<sup>3</sup>Л, уд. акт. 38 кюри/ммоль, Англия) вводили беременным самкам в дозе 9 мкж/г веса или молодым и взрослым мышам в дозе 2,5 мккюри/г веса. Через 1 час после введения Н<sup>3</sup>Л материал фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. На срезы толщиной 5 мкм наносили эмульсию типа М (Госниихимфотопроект) и экспонировали при 4°C в течение 22—49 суток. На автографах, окрашенных гематоксилином Майера, в разных зонах сердца для каждого животного с помощью сеточки окуляра подсчитывали количество зерен серебра на 20 полях определенной площади (180 мкм<sup>2</sup>). Среднее значение из 20 подсчетов с ошибкой средней принимали за среднюю концентрацию метки. Для сопоставления полученных данных среднюю концентрацию метки над клетками проводящей ткани, трабекул и предсердия выражали в % от средней концентрации метки над клетками рабочего миокарда желудочка (у эмбрионов—компактного), которую принимали за 100%. Фон был настолько мал (1 зерно/360 мкм<sup>2</sup>), что при расчетах не учитывался. О достоверности различий судили на основании критерия Стьюдента [5].

*Результаты и обсуждение.* На всех стадиях исследования включение Н<sup>3</sup>Л оценивали в миоцитах желудочка, предсердия, синоатриального (СА) и атриовентрикулярного (АВ) узлов; кроме того, на эмбриональных стадиях число зерен подсчитывали в клетках трабекулярного

миокарда, а на постнатальных—в клетках пучка Гиса. Результаты подсчетов представлены в виде гистограмм (рис. 1).

Анализ гистограмм показывает, что на эмбриональных и ранних постнатальных (3-ьи сутки) стадиях развития концентрация метки над клетками СА и АВ узлов ниже, чем над миоцитами желудочка (рис. 1 а, б, у большинства животных различия достоверны). Следует отметить, что над клетками СА узла на эмбриональных стадиях концентрация метки несколько выше, чем над клетками АВ узла. У 8 и 16-суточных мышей концентрация метки над клетками АВ узла у большинства животных достоверно не отличается от ее значений для клеток миокарда желудочка (рис. 1 б). Для уверенного суждения об интенсивности включения  $\text{H}^3\text{Л}$  в клетки СА узла 8 и 16-суточных мышей число исследованных животных было недостаточным (1—2) и можно лишь сказать, что у 8-суточных мышей концентрация метки, по-видимому, приближается к ее значению над клетками миокарда желудочка (рис. 1 а). У взрослых животных концентрация метки над клетками как СА, так и АВ узла близка или превышает концентрацию метки над клетками рабочего миокарда желудочка. Это превышение может частично объясняться относительно большей долей соединительнотканых клеток в проводящей ткани взрослых животных [8, 9] и трудностью точно разграничивать в световом микроскопе включение в миоциты и клетки соединительной ткани.

Над клетками трабекулярного миокарда желудочков 15 и 18-суточных эмбрионов концентрация метки  $\text{H}^3\text{Л}$  достоверно ниже, чем над миоцитами компактного миокарда (рис. 1 в). Картина включения  $\text{H}^3\text{Л}$  в клетки пучка Гиса в основном аналогична наблюдаемой для АВ узла (рис. 1 г).

Почти на всех стадиях клетки предсердия и желудочка по интенсивности включения  $\text{H}^3\text{Л}$  достоверно не отличаются. Исключение составляют 18-е сутки эмбриогенеза, когда концентрация метки над клетками предсердия достоверно ниже и составляет 65—80% от концентрации метки над клетками рабочего миокарда желудочка.

Данные по включению  $\text{H}^3\text{Л}$  в клетки проводящей ткани и рабочего миокарда представляют интерес при сопоставлении с данными по интенсивности синтеза РНК, полученными для АВ узла [3], а также данными по синтезу ДНК [2]. Концентрация метки  $\text{H}^3$ -уридином над ядрами АВ узла 15 и 18-суточных эмбрионов, 3, 8, 16-суточных и взрослых мышей соответственно составляет 30, 36, 48, 64, 71 и 75% от концентрации метки над клетками рабочего миокарда (средние значения для 3 животных), в то время как концентрация метки  $\text{H}^3\text{Л}$  над клетками АВ узла на этих же стадиях составляет 80, 69, 78, 104, 101 и 126% от концентрации метки над клетками рабочего миокарда. Приведенные цифры показывают, что при включении  $\text{H}^3\text{Л}$  различия между АВ узлом и рабочим миокардом желудочка не столь значительны, как по включению  $\text{H}^3$ -уридина. Тем не менее наиболее низкое включение  $\text{H}^3$ -

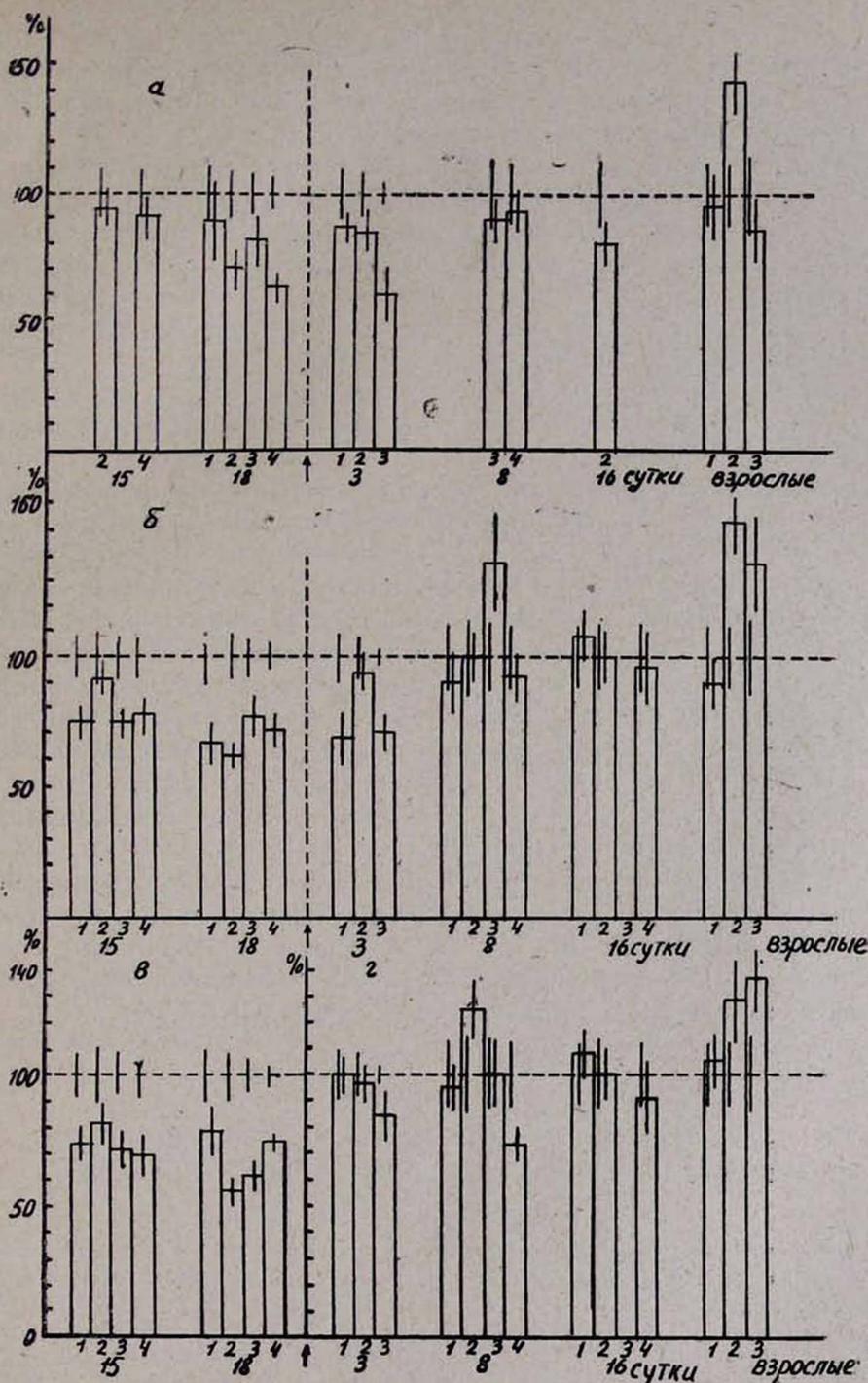


Рис. 1. Изменение в процессе развития концентрации метки N<sup>3</sup>-лейцином над клетками СА узла (а), АВ узла (б), трабекулярного миокарда (в) и пучка Гиса (г), выраженной в % от ее значений для рабочего миокарда сердца, принятых за 100% и обозначенных пунктирной линией. Столбики—средние значения концентрации метки (в %) с доверительными интервалами; 1, 2, 3, 4—отдельные животные. По горизонталям—стадии развития (в сутках), слева от стрелки—эмбриональные, справа—постнатальные; по вертикалям—концентрация метки (в %).

уридина на эмбриональных и ранних постнатальных стадиях совпадает во времени с самым низким включением  $H^3L$ .

Меньшая, чем в рабочем миокарде желудочка, интенсивность синтеза белка в АВ и СА узлах эмбрионов может быть следствием как более низкого уровня синтеза специфических белков, так и значительно более слабой, чем в рабочем миокарде, пролиферации [2]. После одного введения  $H^3$ -тимидина индекс меченых ядер у 15 и 18-суточных эмбрионов соответственно составляет в СА узле 10 и 3%, АВ узле—5 и 2%, рабочем миокарде желудочка—32 и 13%.

У 7—9-суточных мышей как по числу меченных  $H^3$ -тимидином ядер, так и по интенсивности включения  $H^3L$  миоциты АВ узла и пучка Гиса мало отличаются от клеток рабочего миокарда желудочка. У 16-суточных мышей в проводящей ткани и в рабочем миокарде желудочка и предсердия пролиферация почти отсутствует (после одного введения  $H^3$ -тимидина метится 0—0,37% ядер); по включению  $H^3L$  различия между проводящей тканью и рабочим миокардом не достоверны. В клетках трабекулярного миокарда эмбрионов число синтезирующих ДНК ядер значительно ниже, чем в компактном миокарде желудочков [1]. По данным настоящей работы, в этой зоне наблюдается и более низкое включение  $H^3L$ . Таким образом, при сопоставлении проводящей системы и рабочего миокарда сердца на ряде стадий развития наблюдается определенная корреляция между интенсивностью синтеза белка и уровнем пролиферативной активности. Требуется дальнейшего исследования тот факт, что по включению  $H^3L$  клетки проводящей системы и рабочего миокарда отличаются не столь резко, как можно было бы ожидать на основании данных электронной микроскопии [6, 10], свидетельствующих о том, что в процессе развития клетки проводящей системы не накапливают количества миофибриллярных белков, сравнимого с их уровнем в миоцитах рабочего миокарда.

Институт цитологии АН СССР, г. Ленинград

Поступило 18/X 1976 г.

Ի. Լ. ԵՐՈՒՅԻՆԱ

ՀԱՏ ԱՎՏՈՌԱԴԻՈԳՐԱՖԻԱՅԻ ՏՎՅԱԼՆԵՐԻ  $H^3$  ԼԵՅՑԻՆԻ ԸՆԴԳՐԿՈՒՄԸ  
ՄԿԱՆ ԶԱՐԳԱՅՈՂ ՄՐՏԻ ՀԱՂՈՐԴՉԱԿԱՆ ՄԻՍԵՄԻ ԲԶԻԶՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հատավտորագրաֆիայի տվյալների,  $H^3$  — Լեյցինը ընդգրկելով մկան զարգացող սրտի հաղորդական սիստեմի բջիջների մեջ, գնահատել են սրտի տարբեր զոնաներում սպիտակուցի սինթեզը:

I. L. YEROKHINA

$H^3$ -LEUCINE INCLUSION INTO THE CELLS OF THE CONDUCTIVE  
SYSTEM OF THE DEVELOPING HEART IN MOUSE  
BY RADIOAUTOGRAPHIC DATA

S u m m a r y

Protein synthesis on  $H^3$ -leucine inclusion into the cells of conductive system of the developing heart in mouse by radioautographic data has been estimated in different heart zones.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ерохина И. Л. Цитология, 1968, 10, 1391—1409.
2. Ерохина И. Л. Онтогенез, 1977, в печати.
3. Ерохина И. Л., Румянцев П. П. Сб.: «Функциональная морфология, генетика и биохимия клетки». Л., 1974, 45—48.
4. Румянцев П. П., Ерохина И. Л. Матер. VIII Всесоюзного съезда анатомов, гистол. и эмбриол., Ташкент, 1974, 320—321.
5. Урбах В. Ю. Биометрические методы, М., 1964.
6. Challice C. E. In: Meth. achiev. exper. pathol., 1971, 5, 121—172.
7. Domenech-Mateu J. M., Boya-Vegué J. J. Anat., 1975, 119, 77—83.
8. James T. N. Amer. j. cardiol., 1970, 25, 213—226.
9. Lev M., Thamerit J. C. Acta anat. Suisse, 1973, 85, 342—352.
10. Mc Nutt S. N., Fawcett D. W. In: The mammalian myocardium. 1974. New York—London—Sydney—Toronto—1—49.
11. Nanot J., Le Douarin G. J. Microsc. biol. cell., 1975, 22, 29—38.
12. Ya-tauchi A. Z. Anat. Entwickl.—Gesch., 1965, 124, 562—587.