

Морфологическое исследование телочитов в левом предсердии у пациентов с длительно персистирующей фибрилляцией предсердий

Митрофанова Л. Б.¹, Хазратов А. О.¹, Гуршченков А. В.¹, Осадчий А. М.¹, Горшков А. Н.^{1,2}, Гальковский Б. Э.¹

Телочиты были обнаружены в предсердиях человека в 2005г. Фибрилляция предсердий (ФП) является самым распространенным нарушением ритма сердца, сопровождаемая воспалением и фиброзом, однако морфологический анализ телочитов при данной патологии еще не был выполнен.

Цель. Морфологический анализ телочитов левого предсердия у пациентов с длительно персистирующей ФП.

Материал и методы. Материалом исследования послужили: стенка левого предсердия (ЛП) 10 пациентов с ФП, 10 — без ФП (аутопсийный материал) и фрагменты ЛП 2 пациентов с ФП (операционный материал). Выполнялось гистологическое, иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование, выделение культур телочитов и конфокальная лазерная микроскопия.

Результаты. Было подтверждено наличие телочитов в ЛП. Морфометрический анализ выявил, что среднее количество телочитов в ЛП достоверно меньше в 3 раза у пациентов с ФП, чем без нее ($2,7 \pm 1,1$ против $8,2 \pm 3,0$ при $\times 400$). Корреляционный анализ показал значимые отрицательные связи количества телочитов с ФП, фиброзом, липоматозом и воспалением.

Заключение. Развитие воспаления и фиброза при ФП сопровождается потерей телочитов.

Российский кардиологический журнал. 2019;24(7):53–62
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-7-53-62>

Ключевые слова: телочиты левого предсердия, фибрилляция предсердий, конфокальная и электронная микроскопия, выделение культур.

Конфликт интересов: не заявлен.

¹ФГБУ НМИЦ им. В.А.Алмазова, Санкт-Петербург; ²ФГБУ НИИ гриппа им. А.А.Сморodinцева Санкт-Петербург, Россия.

Митрофанова Л. Б.* — д.м.н., г.н.с. НИЛ патоморфологии, ORCID: 0000-0003-0735-7822, Хазратов А. О. — врач-патологоанатом, ORCID: 0000-0002-1739-2480, Гуршченков А. В. — к.м.н., ассистент кафедры хирургических болезней, сердечно-сосудистый хирург, ORCID: 0000-0001-8494-0646, Осадчий А. М. — сердечно-сосудистый хирург, ORCID: 0000-0003-4709-617X, Горшков А. Н. — к.б.н., н.с., зав. лабораторией внутриклеточного сигналинга и транспорта, ORCID: 0000-0003-2303-1144, Гальковский Б. Э. — очный аспирант, врач-патологоанатом, ORCID: 0000-0002-5252-483X.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): lubamitr@yandex.ru

CD — cluster of differentiation, кластер дифференцировки, DAPI — 4',6'-diamidino-2-phenylindole, 4',6'-диамидино-2-фенилиндол, FIB-SEM — focused ion beam scanning electron microscope, сканирующая электронная микроскопия с помощью фокусируемого ионного пучка, NYHA — New York Heart Association, Нью-Йоркская Ассоциация сердца, ЛП — левое предсердие, РЧА — радиочастотная абляция, ТЭЛА — тромбоз легочной артерии, ФП — фибрилляция предсердий, ФСБ — фосфатно-солевой буфер, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Рукопись получена 05.02.2019

Рецензия получена 11.04.2019

Принята к публикации 18.04.2019



Morphological study of telocytes in the left atrium in patients with long-term persistent atrial fibrillation

Mitrofanova L. B.¹, Khazratov A. O.¹, Gurshchenkov A. V.¹, Osadchii A. M.¹, Gorshkov A. N.^{1,2}, Galkovsky B. E.¹

The telocytes were found in the human atria in 2005. Atrial fibrillation (AF) is the most common heart rhythm disorder, accompanied by inflammation and fibrosis, however, the morphological analysis of telocytes in this pathology has not yet been performed.

Aim. To make morphological analysis of left atrial telocytes in patients with long-term persistent AF.

Material and methods. The study was based on the left atrial (LA) wall of 10 patients with AF, 10 without AF (autopsy material) and LP fragments of 2 patients with AF (surgical material). A histological, immunohistochemical, and ultrastructural study, telocyte culture isolation, and confocal laser microscopy were performed.

Results. The presence of telocytes in the LA was confirmed. Morphometric analysis revealed that the average number of telocytes in the LP was significantly less by 3 times in patients with AF than without it ($2,7 \pm 1,1$ vs $8,2 \pm 3,0$ with $\times 400$). Correlation analysis revealed significant negative associations of the number of telocytes with AF, fibrosis, lipomatosis, and inflammation.

Conclusion. The development of inflammation and fibrosis in AF is accompanied by the loss of telocytes.

Russian Journal of Cardiology. 2019;24(7):53–62
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-7-53-62>

Key words: left atrial telocytes, atrial fibrillation, confocal and electron microscopy, culture isolation.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

¹Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; ²Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russia.

Mitrofanova L. B. ORCID: 0000-0003-0735-7822, Khazratov A. O. ORCID: 0000-0002-1739-2480, Gurshchenkov A. V. ORCID: 0000-0001-8494-0646, Osadchii A. M. ORCID: 0000-0003-4709-617X, Gorshkov A. N. ORCID: 0000-0003-2303-1144, Galkovsky B. E. ORCID: 0000-0002-5252-483X.

Received: 05.02.2019 Revision Received: 11.04.2019 Accepted: 18.04.2019

Впервые телочиты — интерстициальные клетки, подобные клеткам Кахаля, были обнаружены в миокарде предсердий человека в 2005г [1]. Телочиты были найдены традиционно с помощью электронной микроскопии и описаны в качестве клеток с очень тонкими и длинными телоподиями, имеющими подомы (дилатации) и подомеры (очень тонкие сег-

менты). Трёхмерная (3D) морфология телочитов была выявлена с помощью FIB-SEM-томографии (сканирующая электронная микроскопия с послойным травлением сфокусированным ионным пучком) [2]. Предыдущие исследования показали, что телочиты (интерстициальные пейсмекеры) участвуют в гетероклеточных контактах практически со всеми

Таблица 1
Характеристика пациентов с ишемической болезнью сердца

	Без ФП (N=10)	С ФП (N=10)
Возраст, (39-86 лет)	68±10	63±9
Пол	8	5
Длительность ФП (в месяцах)	-	30-192
Острый инфаркт миокарда	7	5
ТЭЛА	3	4
Инсульт	-	1
Диаметр левого предсердия (в мм)	40±5	56±13*
Хроническая сердечная недостаточность	10	10
Артериальная гипертензия	8	8
Сахарный диабет	3	4

Примечание: * — $p < 0,05$.

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии.

клетками сердца: с кардиомиоцитами, сердечными стволовыми клетками/клетками-предшественниками, фибробластами, перицитами, макрофагами, тучными клетками, лимфоцитами, с клетками Шванна, эндотелиоцитами, адипоцитами и другими [3]. Считается, что телоциты имеют CD117+, DOG1+, CD34+, vimentin+, S100+, connexin 43+ — иммунофенотип. Клетки осуществляют межклеточные контакты, могут функционировать как механорецепторы/преобразователи, являются ключевыми “игроками” в сердечной регенерации и участвуют в аритмогенезе [4, 5]. Фибрилляция предсердий (ФП) является самым распространенным нарушением ритма сердца, сопровождаясь воспалительной инфильтрацией и фиброзом [6], однако морфологический анализ телоцитов при данной патологии еще не был выполнен.

Цель исследования: морфологический анализ телоцитов левого предсердия (ЛП) у пациентов с длительно персистирующей ФП.

Материал и методы

Материалом исследования послужили: 1) задняя стенка ЛП между устьями легочных вен 10 пациентов с длительно персистирующей формой ФП и 10 пациентов без ФП, умерших от ишемической болезни сердца (табл. 1), 2) фрагмент задней стенки ЛП 3 мм, резецированный во время выполнения модифицированной операции MAZE IV с применением радиочастотной абляции (РЧА) и методики “разрез-шов” у 2 пациентов с ревматическим пороком митрального клапана с длительно персистирующей формой ФП (женщины и мужчины) [7], 3) истории болезни и протоколы вскрытий. Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Выполнялись: 1) гистоло-

гическое исследование с окрасками гематоксилином и эозином, по ван Гизону и трихромом Массона (в 20 случаях; аутопсийный материал), окрашивание полутонких срезов толуидиновым синим для дальнейшей электронной микроскопии (2 случая; операционный материал); 2) иммуногистохимическое исследование с антителами к CD3, CD45, CD117, DOG1, с коктейлем антител CD34/S100, CD34/connexin43, CD34/vimentin; 3) электронная микроскопия (2 случая; операционный материал); 4) выделение культур (2 случая; операционный материал); 5) фазово-контрастная и флюоресцентная микроскопия выделенных культур телоцитов; 6) конфокальная микроскопия с антителом к CD117 и коктейлями антител CD34/S100 и CD34/vimentin миокарда пациентов с ишемической болезнью сердца (2 случая без ФП; секционный материал) и культуры телоцитов (1 случай; операционный материал); 7) морфометрия с подсчетом среднего количества телоцитов в одном поле зрения при увеличении 400, подсчетом среднего количества CD3+ и CD45+ — клеток на 1 мм^2 (в каждом препарате исследовалось не менее 20 полей зрения), определением относительной площади фиброзной и жировой ткани (отношение площади каждой ткани к площади гистологического препарата; во всех 20 аутопсийных случаях); 8) статистический анализ с использованием программы IBM SPSS Statistics 19, version 19.0.0. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Имуногистохимическое исследование с антителами к CD117, DOG1, с коктейлем антител CD34/S100, CD34/connexin43, CD34/vimentin проводилось на миокарде левого предсердия во всех 22 случаях аутопсийного и операционного материала, а также на поперечной ободочной кишке (в качестве контроля).

Для электронной микроскопии образцы миокарда фиксировались в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (ФСБ) в течение 1 ч при комнатной температуре, после чего промывались в трёх сменах ФСБ. Далее выполнялась фиксация кусочков в 1% растворе тетроксид осмия на том же буфере, при той же температуре в течение 1 ч. После фиксации объекты были дегидратированы в серии растворов этанола возрастающей концентрации, пропитаны ацетоном и заключены в эпоксидную смолу Эпон. Были получены полутонкие срезы исследуемых образцов толщиной 1-2 мкм. Полутонкие срезы были окрашены толуидиновым синим и исследованы в световом микроскопе. Затем из блоков, содержащих клетки с гистологическими характеристиками телоцитов, на ультрамикротоме Leica UC7 были получены ультратонкие срезы толщиной 50-70 нм. Срезы были помещены на медные сетки и контрастированы в спиртовом растворе уранил-ацетата и водном растворе цитрата свинца. Электронно-

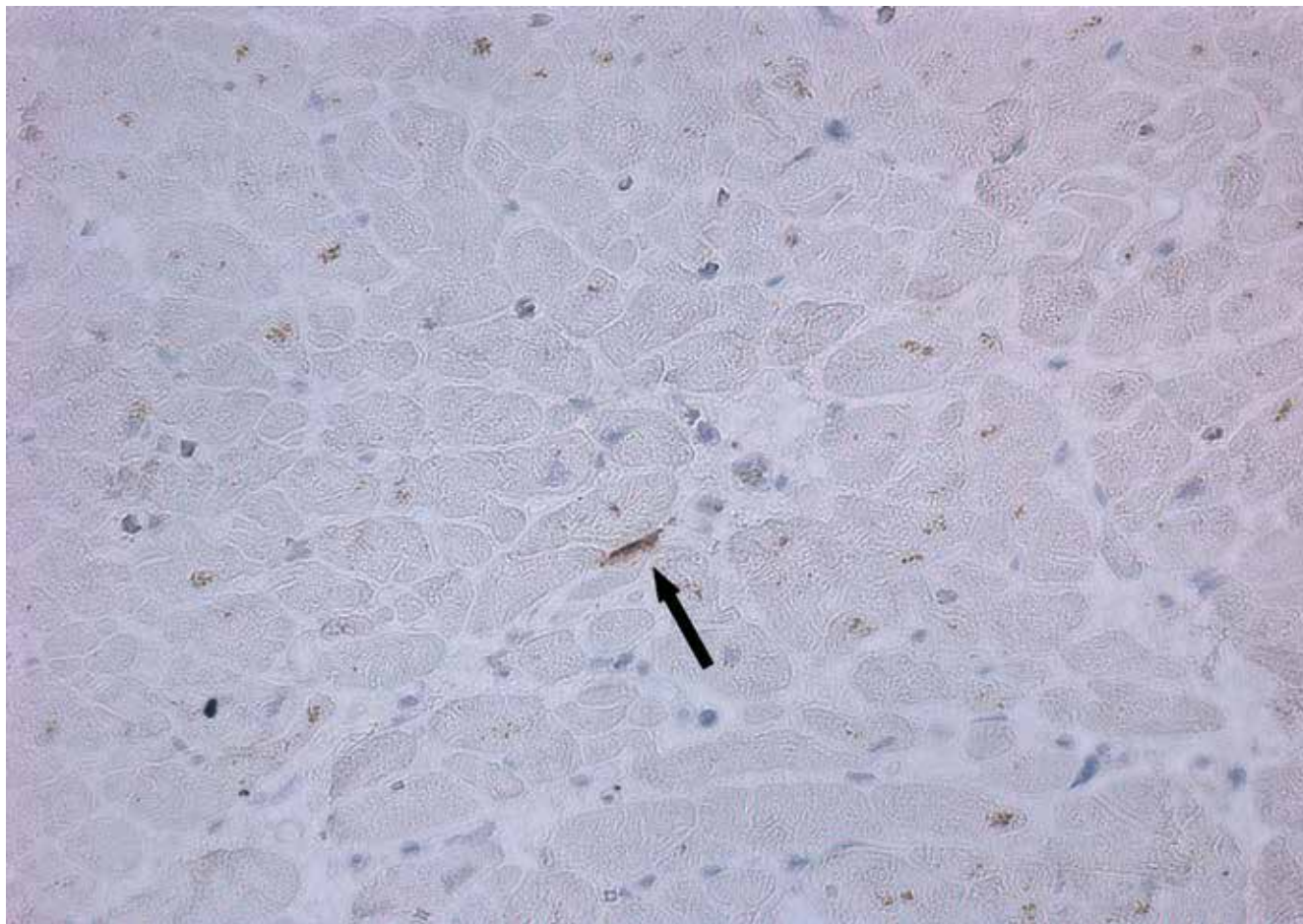


Рис. 1. Телоцит в миокарде ЛП у пациента без ФП (коричневое окрашивание; указан стрелкой), антитела к CD117; x200.

микроскопическое исследование срезов было выполнено на микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morada (Digital Imaging Solutions Inc.).

Для выделения культур телоцитов, образцы миокарда в стерильных условиях доставлялись в лабораторию, где их измельчали до фрагментов величины не более 1 мм в растворе 0,1% коллагеназы (тип II), после чего полученные суспензии инкубировали при 37° С в течении 60 мин. Далее в гомогенизаты добавляли в 5 кратном объеме питательную среду α -MEM, содержащую 10% фетальной коровьей сыворотки (ФКС), 1% глутамина и 1% смеси пенициллин/стрептомицин, одновременно добиваясь деактивации коллагеназы, затем помещали в пробирку и центрифугировали в течение 10 мин при 300 оборотах. После центрифугирования надосадочная жидкость удалялась, а в осадок добавлялась свежая питательная среда α -MEM. Полученную взвесь высеивали на культуральные фласки площадью 25 см² в питательной среде. Первичные культуры инкубировали в стандартных условиях культивирования (5% CO₂, 37° С) до появления адгезивных фибробластоподобных клеток.

Каждые 48 часов производили замену 50% культуральной среды. После появления в культурах колоний стромальных клеток образцы отмывали от фрагментов тканей ФСБ и культивировали до достижения культурами субконфлюентности.

Для обогащения телоцитами первичной культуры стромальных клеток, культуры разделяли по градиенту адгезии. Клетки снимали с культуральных фласков 0,05% раствором трипсина, отмывали ФСБ, после чего высеивали на новые культуральные фласки (пересев 1). Через 60 мин с фласков снимали культуральную среду, содержащую не прикрепившиеся клетки, и пересевали на новые фласки (пересев 2). Полученные культуры инкубировали в стандартных условиях. Затем их высеивали на покровные стекла и инкубировали 48 ч, после чего фиксировали в 4% растворе параформальдегида 15 мин при комнатной температуре, после чего отмывались раствором ФСБ. Фиксированные культуры клеток хранились в свежем растворе ФСБ до проведения иммунофлуоресцентного и конфокального анализа.

Для флуоресцентной и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии использовали вторичные

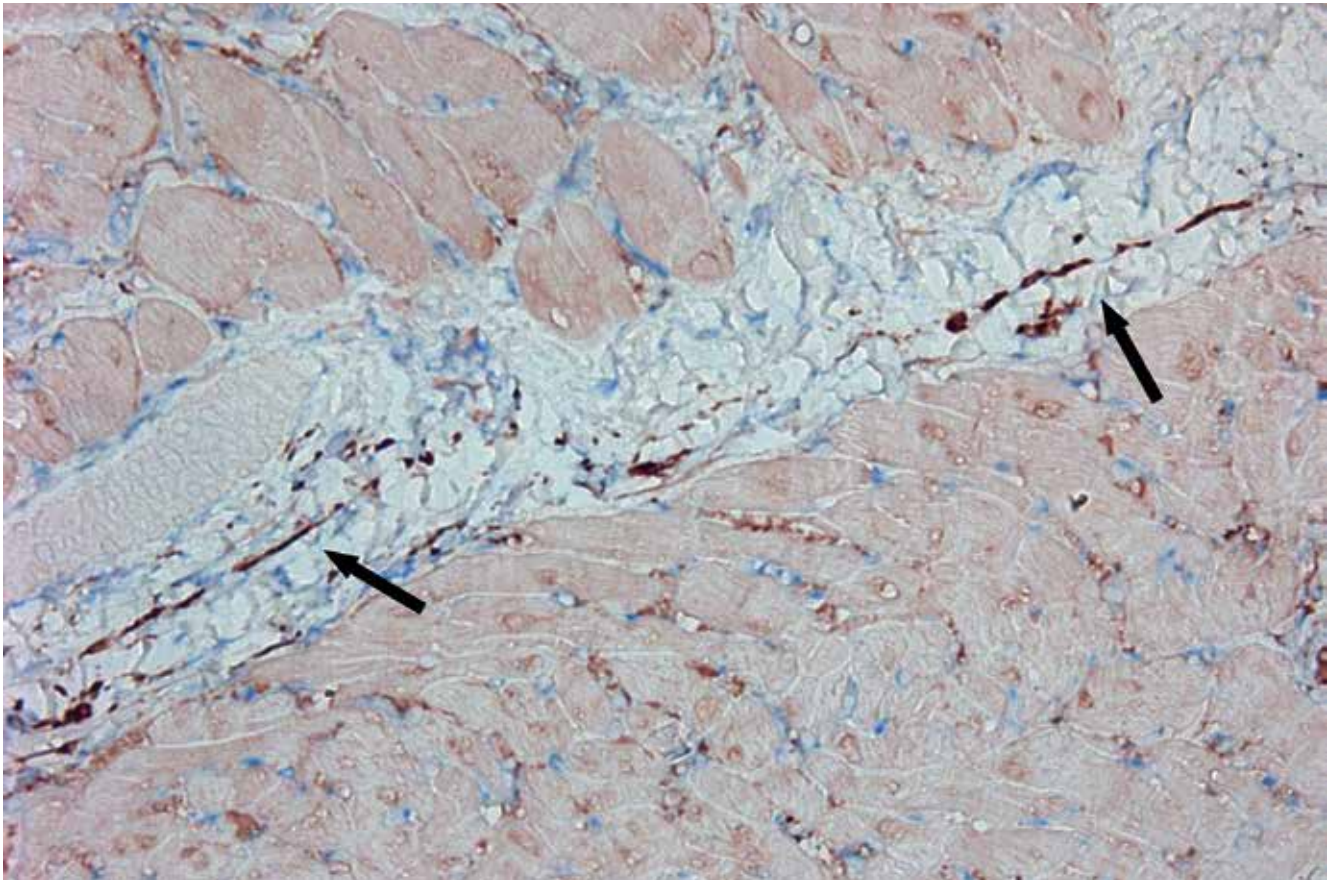


Рис. 2. Телоциты в миокарде ЛП у пациента без ФП (бордовое окрашивание; указаны стрелками). Иммуногистохимическое исследование с двойной меткой, коктейль антител CD34/S100; x200.

Таблица 2

Морфометрический анализ количества клеток с характеристикой телоцитов

Пациенты	Относительная площадь фиброза (%)	Относительная площадь липоматоза (%)	Среднее число CD3+ лимфоцитов	Среднее число CD45+ клеток	Среднее число телоцитов
Без ФП: № 1	8	0	5	5,8	7,9
№ 2	2,5	1,3	3,8	10,5	7
№ 3	10	0	8,2	14,6	15,9
№ 4	8,3	1,3	4,6	15,2	8,2
№ 5	0,7	0	0,7	8,8	8,9
№ 6	7,0	3,7	2,6	6,8	9,6
№ 7	7,9	1,4	5,2	14,8	9,4
№ 8	19,0	2,0	4,4	13,4	5,0
№ 9	5,0	7,4	5,2	5	6,2
№ 10	8,4	0,0	2,4	3,2	4,6
С ФП: № 1	29	9	24	25,2	2
№ 2	11	1,8	15,3	16	2,7
№ 3	53	10,4	32,7	31,7	2
№ 4	34,7	5	27,4	26,6	1,4
№ 5	27	17,5	25	33,2	2,5
№ 6	9,5	15,8	16	17,8	2,5
№ 7	14,2	1,2	43,6	36,8	1,4
№ 8	28,3	3,9	16,6	18,6	3,7
№ 9	34,8	7,8	23,5	22	3,7
№ 10	21,3	14,5	27,2	27,7	5,3

Сокращение: ФП — фибрилляция предсердий.

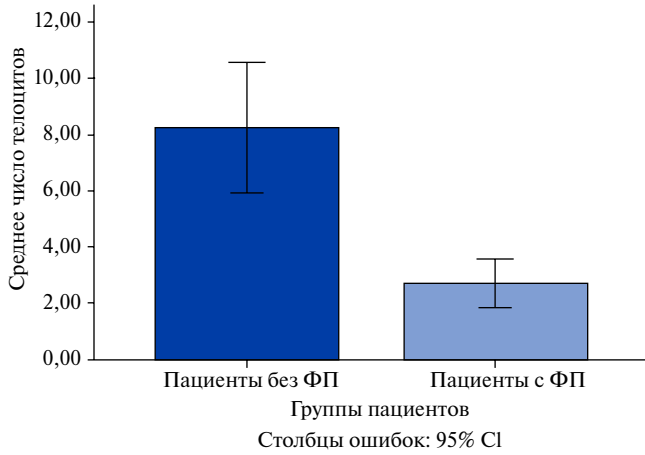


Рис. 3. Среднее число телоцитов в 1 п/зрения миокарда ЛП при увеличении 400 у пациентов с ФП и без нее.

антитела Alexa Fluor 488 ® goat anti-mouse (Thermo Fisher Scientific), Alexa Fluor 568 ® goat anti-rabbit (Thermo Fisher Scientific); контрастирование ядер клеток проводилось с помощью DAPI (appliChem). Анализ тканевых и культуральных препаратов осуществлялся на Leica-4000 и конфокальном сканирующем микроскопе Leica TCS SP8 (Germany).

Результаты

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование с морфометрическим анализом миокарда ЛП пациентов с ишемической болезнью сердца продемонстрировало статистически достоверно большую относительную площадь фиброзной (32±12 против 6±3%) и жировой ткани (11±6 против 6±6%), а также большее количество Т-лимфоцитов (25,1±8,6 против 4,2±2,0) и CD45+клеток (25,6±6,9 против 9,8±4,5) у пациентов с ФП.

Иммуногистохимическое исследование миокарда с антителом к DOG1 выявило крайне бледное окрашивание цитоплазмы клеток с характеристиками телоцитов. Использование антитела к CD117 дало более адекватный результат (рис. 1), но не во всех случаях. Лучший результат дало использование двойной метки с коктейлем антител CD34/S100 (рис. 2), CD34/connexin43, CD34/vimentin. Морфометрический анализ количества клеток с характеристикой телоцитов осуществлялся на препаратах с двойной меткой к антителам CD34/S100 (табл. 2). В результате морфометрии было выявлено, что среднее количество телоцитов в поле зрения при увеличении 400 в миокарде ЛП у пациентов с ФП достоверно меньше, чем у пациентов без нее (2,7±1,1 против 8,2±3,0; рис. 3). Корреляционный анализ показал значимые отрицательные связи количества телоцитов с ФП, относительной площадью фиброза, липоматоза и количеством лимфоцитов в ЛП и не выявил связи с возрастом, полом и длительностью ФП (рис. 4).

Корреляционные связи между количеством телоцитов, морфометрическими параметрами левого предсердия и фибрилляцией предсердий (p<0,05)

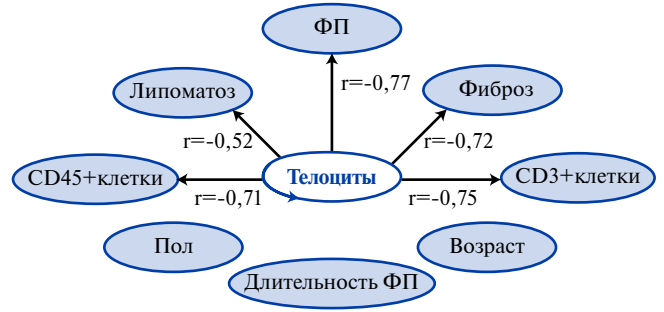


Рис. 4. Корреляционные связи между количеством телоцитов, морфометрическими параметрами ЛП и ФП.

Сокращение: ФП — фибрилляция предсердий.

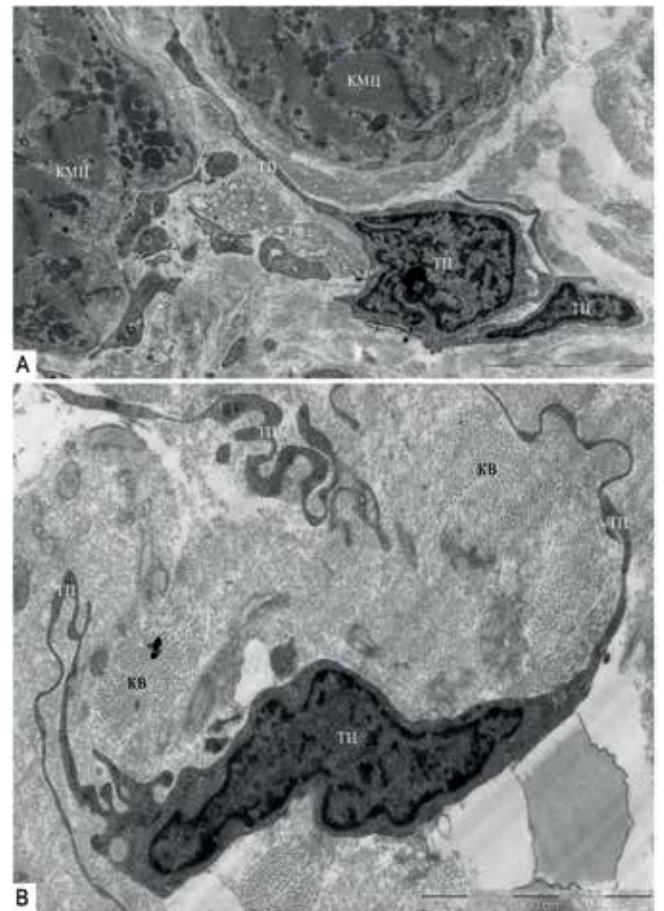


Рис. 5 (А, В). Электронная трансмиссионная микроскопия. Миокард ЛП пациента с ревматическим пороком митрального клапана и длительно существующей ФП.

Примечание: верхняя микрофотография: между кардиомиоцитами находится телоподия телоцита. Нижняя микрофотография: телоцит среди плотных коллагеновых волокон. Видны ядродержащие области телоцитов и отходящие от них телоподии.

Сокращения: тц — телоцит, тп — телоподия, кмц — кардиомиоцит, кв — коллагеновые волокна.

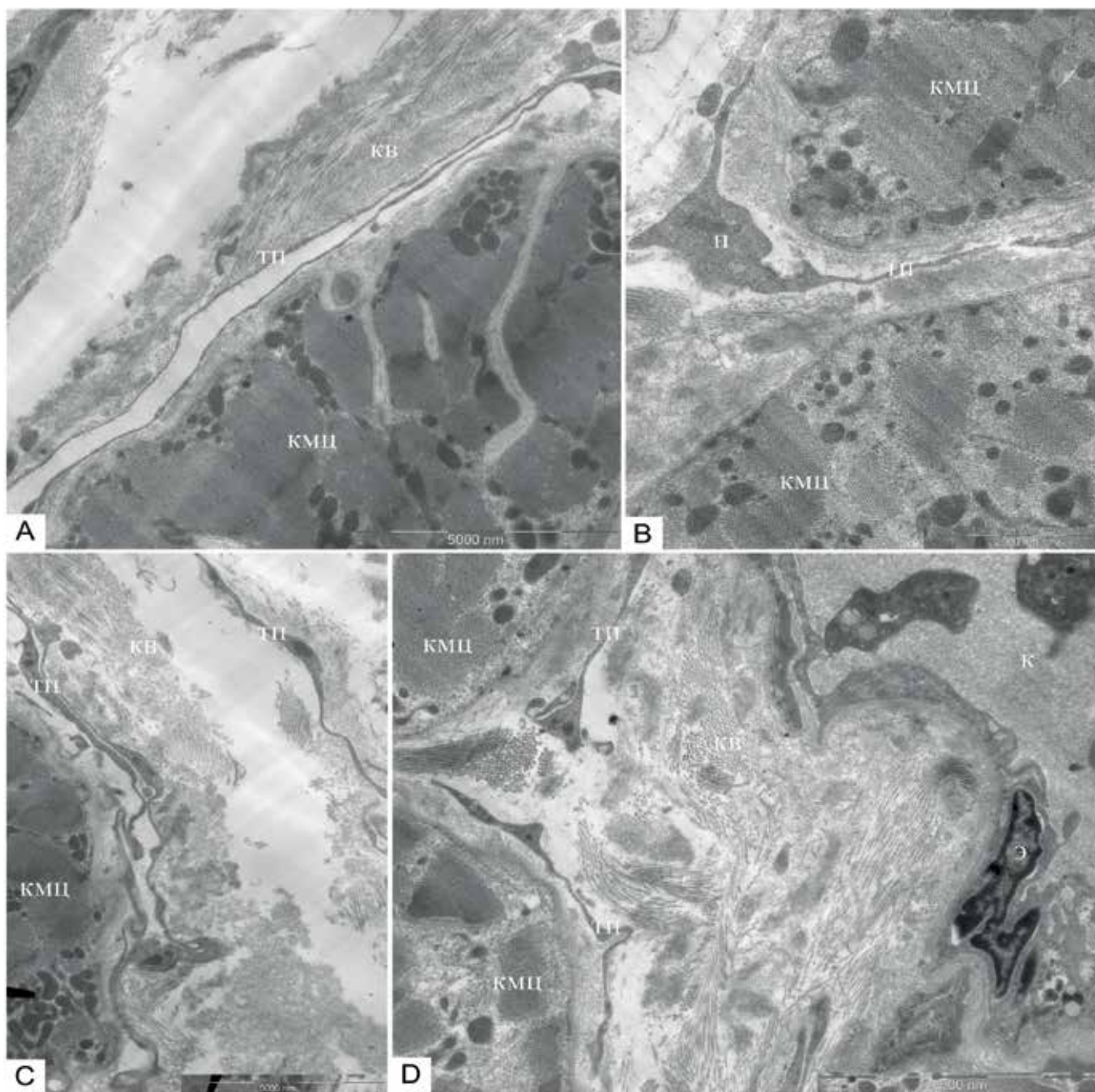


Рис. 6 (А, В, С, D). Электронная трансмиссионная микроскопия. Миокард ЛП пациента с ревматическим пороком митрального клапана и длительно существующей ФП.

Примечание: телоподии, локализованные вблизи от кардиомиоцитов и кровеносных капилляров.

Сокращения: тп — телоподия, п — подом, кмц — кардиомиоцит, кв — коллагеновые волокна, к — капилляр, э — эндотелий.

Факт неадекватного окрашивания клеток с характеристиками телоцитов в миокарде антителами к DOG1 и CD117 при положительной реакции в контроле (толстая кишка) привел нас к выводу о том, что требуется более веское доказательство наличия телоцитов в ЛП при ФП. Поэтому было выполнено ультраструктурное исследование и выделение культур из данной зоны сердца.

При электронной микроскопии образцов операционного материала (с длительно персистирующей

ФП) было обнаружено, что в хорошо выраженной строме, богатой коллагеновыми волокнами, между кардиомиоцитами и сосудами локализуются клетки с ультраструктурными характеристиками телоцитов. Телоциты имеют небольшую ядросодержащую область (тело) округлой или несколько угловатой формы (рис. 5), от которой отходят несколько очень тонких (диаметр около 100 нм) отростков. Данные отростки (телоподии) имеют значительную длину — несколько десятков мкм. Их ультраструктурной осо-

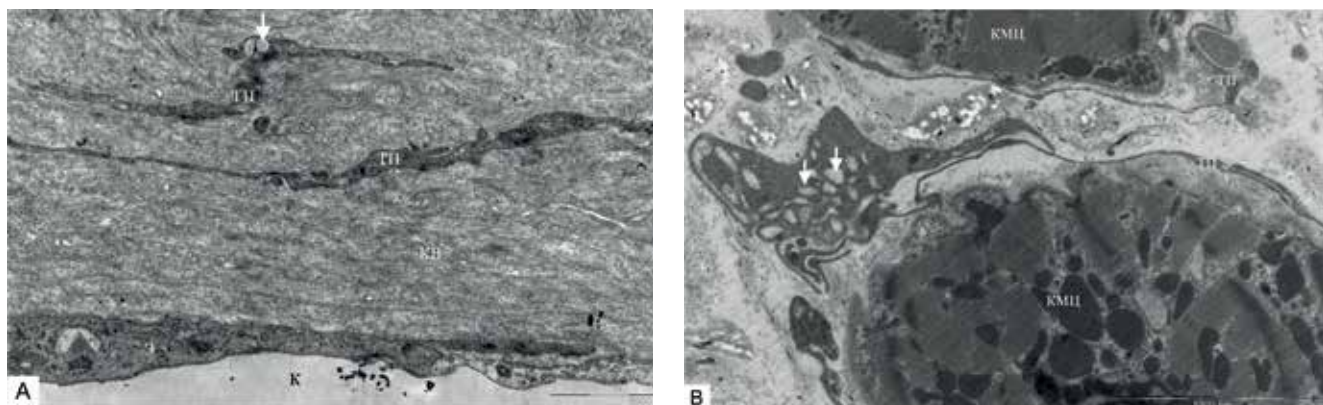


Рис. 7 (А, В). Дегенеративные ультраструктурные изменения (вакуолизация цитоплазмы) в телоцитах ЛП с длительной ФП.

Примечание: стрелки — вакуолизация цитоплазмы телоцитов.

Сокращения: тп — телоподия, кмц — кардиомиоцит, кв — коллагеновые волокна.

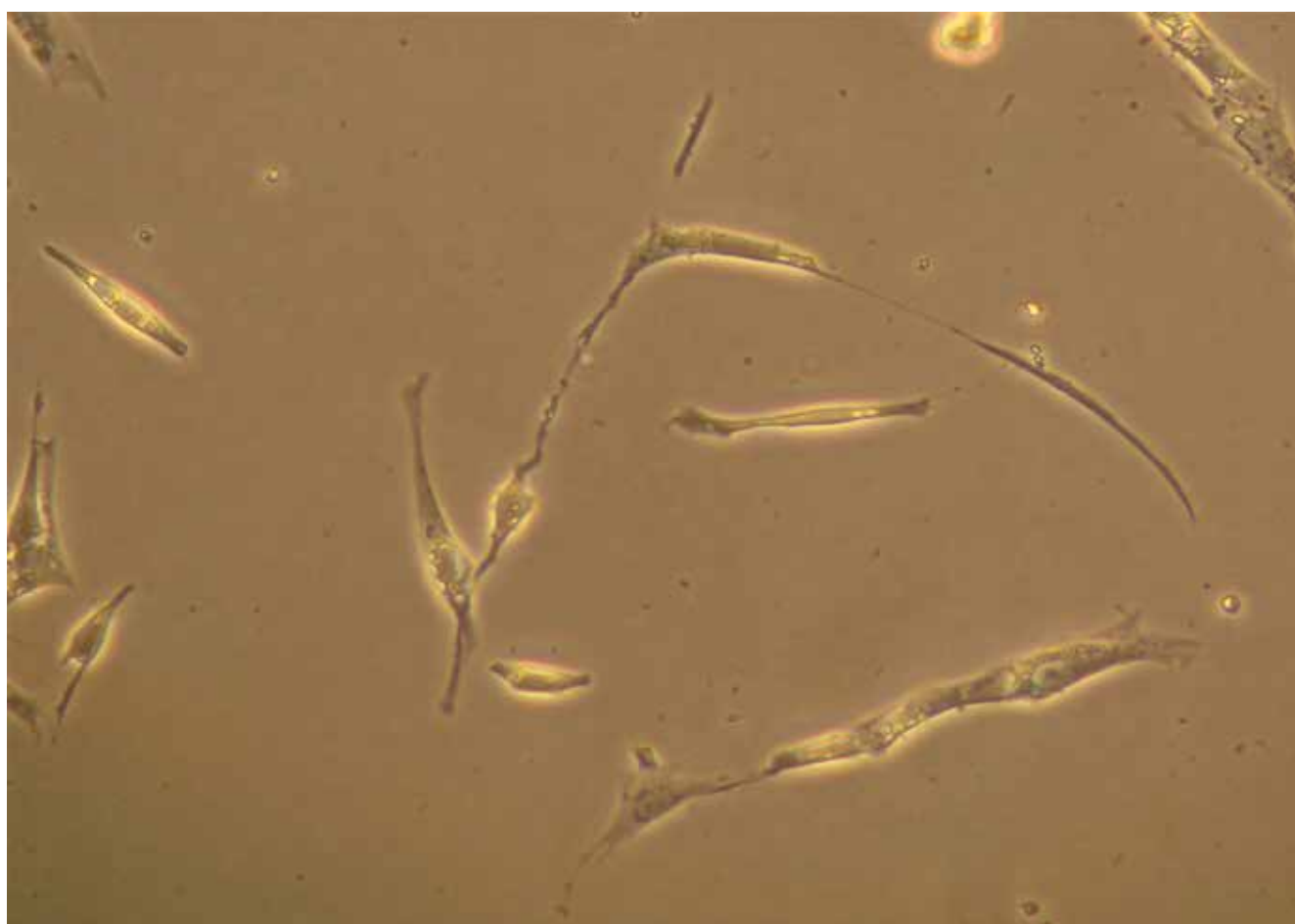


Рис. 8. Фазово-контрастная микроскопия культуры телоцитов из ЛП.

Примечание: стрелкой обозначен телоцит с угловатым телом и 2 длинными отростками — телоподиями. Вокруг телоцита веретенообразные — фибробластоподобные клетки; $\times 200$.

бенностью являются периодически встречающиеся локальные расширения (подомы), обычно содержащие митохондрии, цитоскелетные элементы и кавелолы. Телоподии как правило локализованы вблизи от кардиомиоцитов рабочего миокарда и кровенос-

ных капилляров (рис. 6). В некоторых случаях наблюдаются дегенеративные изменения в ультраструктуре телоцитов, включающие вакуолизацию цитоплазмы как в составе телоподий, так и в составе тел данных клеток (рис. 7).

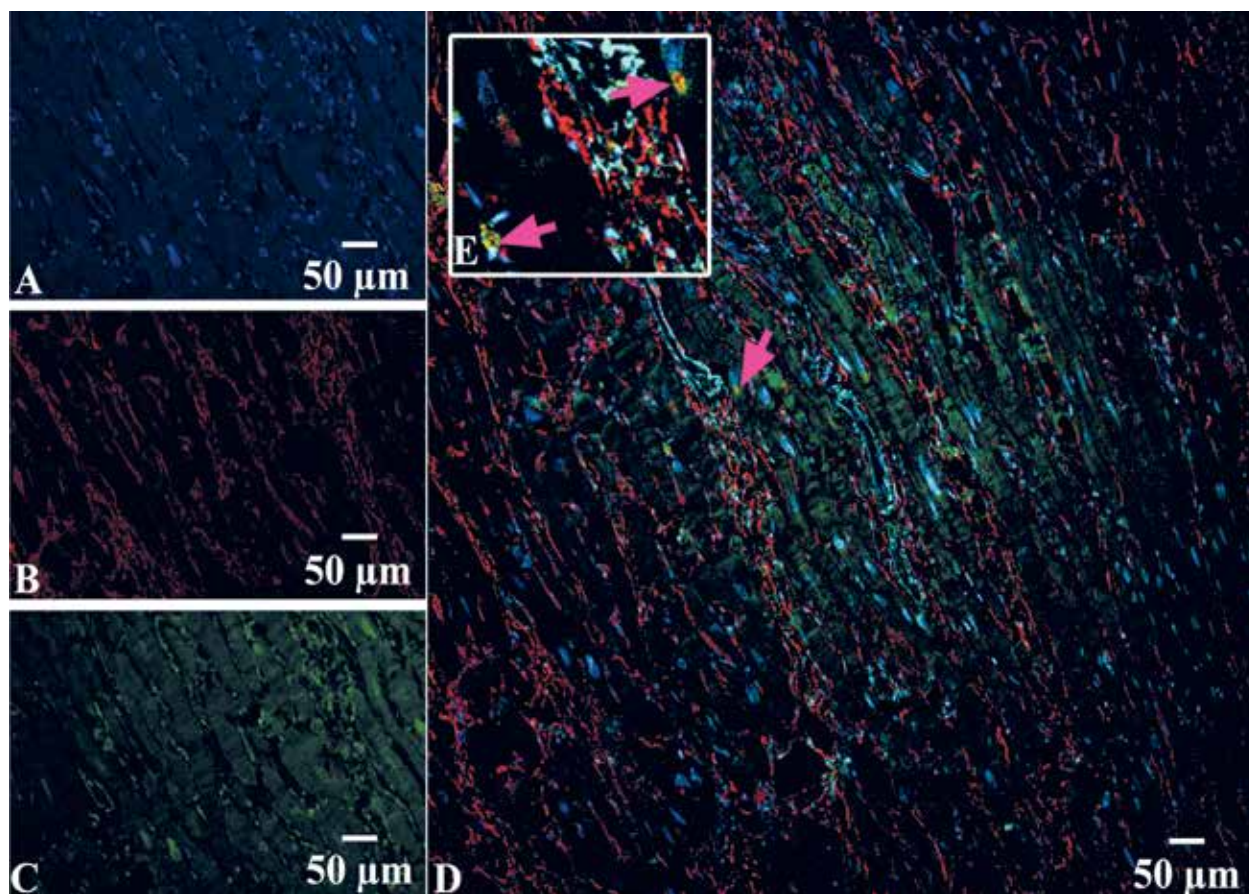


Рис. 9 (A, B, C, D, E). Конфокальная лазерная микроскопия рабочего миокарда ЛП пациента без ФП с коктейлем CD34/S100. **A.** Синяя флуоресценция ядер (DAPI). **B.** Красная флуоресценция CD34 на сосудах и телочитах. **C.** Зеленая флуоресценция S100 на жировой, нервной ткани и телочитах. **D, E.** Козкспрессия CD34 и S100 на телочитах визуализируется в виде желтой/оранжевой флуоресценции (указано стрелками).

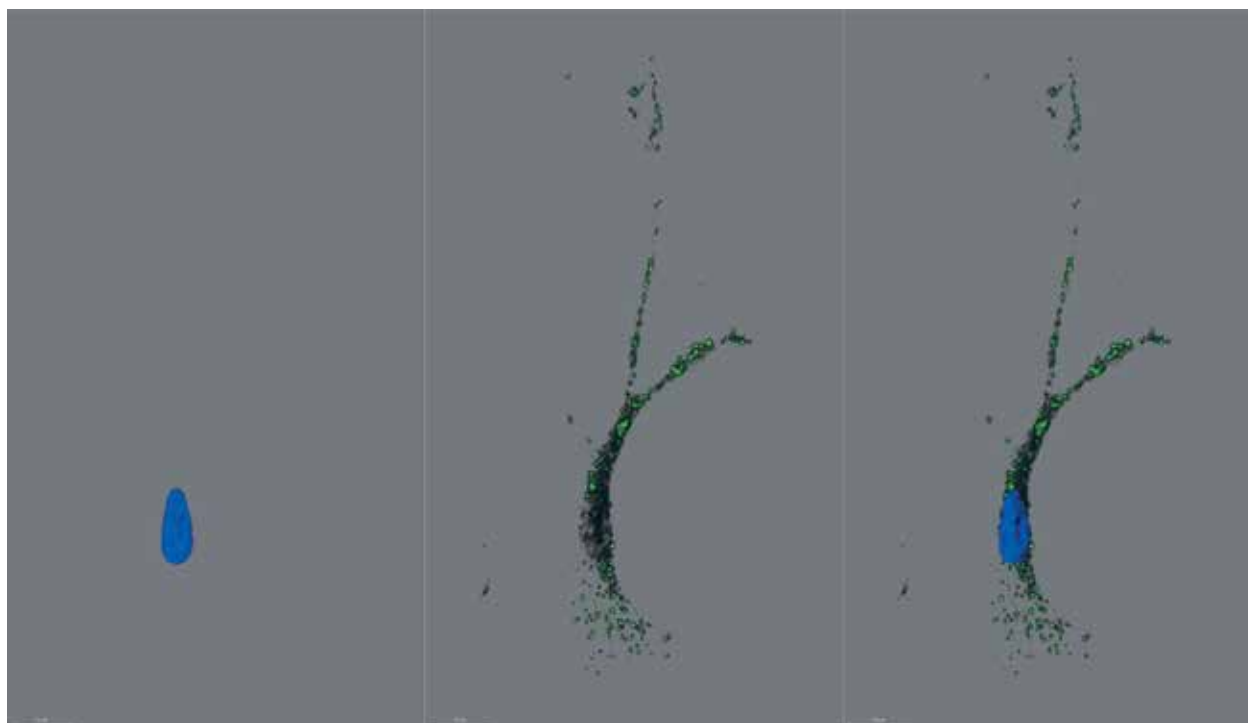


Рис. 10 (A, B, C). Конфокальная лазерная микроскопия рабочего миокарда ЛП культуры телочитов, выделенной из ЛП пациентки с ревматическим пороком сердца и ФП. **A.** Синяя флуоресценция ядра телочита (DAPI). **B.** Зеленая флуоресценция CD117 в цитоплазме телочита. **C.** Наложение каналов с одновременной визуализацией синей и зеленой флуоресценции телочита; x 400.

В первичных культурах стромальных клеток предсердия при фазовой контрастной микроскопии были обнаружены типичные телоциты (рис. 8). У них было веретенообразное, угловатое клеточное тело и два длинных продолжения — телоподии. Морфология телоцитов *in vitro* отличалась от фибробластоподобных клеток. Постепенно количество телоподий у телоцитов становилось больше (4-5), они удлинялись и соединялись с другими телоцитами, а также с фибробластоподобными клетками, формируя сетчатую структуру.

Конфокальная микроскопия миокарда пациентов без ФП (аутопсийный материал) также выявила клетки с характеристиками и иммунофенотипом телоцитов. При этом определялась отчетливая флуоресценция того же антитела к CD117, которое использовалось нами при обычном иммуногистохимическом исследовании, а также коэкспрессия CD34/S100 (рис. 9), CD34/*connexin43*, CD34/*vimentin* на телоцитах в виде желтой/оранжевой флуоресценции.

Конфокальная микроскопия культур телоцитов из ЛП (операционный материал) показала идентичные результаты. При этом зеленая флуоресценция CD117 отчетливо визуализировалась на телоцитах (рис. 10).

Таким образом, с помощью иммуногистохимического метода, электронной и лазерной конфокальной микроскопии в рабочем миокарде ЛП у пациентов с ФП и без нее было доказано наличие телоцитов. При этом количество интерстициальных пейсмекерных клеток у пациентов с длительно персистирующей ФП было в 3 раза достоверно меньше, чем у больных без нее и имело значимые отрицательные корреляционные связи как с наличием данного нарушения ритма, так и с площадью фиброза, липоматоза и лимфоцитарной инфильтрацией.

Обсуждение

Полученные нами данные об уменьшении количества телоцитов при кардиосклерозе полностью совпадают с результатами работы Richter M., Kostin S. [8]. Авторы исследовали миокард выходного тракта левого желудочка у больных с миокардитом, дилатационной и ишемической кардиомиопатией, сопровождавшихся хронической сердечной недостаточностью (ХСН) IV (NYHA) и подвергшихся трансплантации сердца. У этих пациентов было выявлено уменьшение количества телоцитов более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой (пациенты с аортальным стенозом без ХСН). При этом были обнаружены отрицательные корреляционные связи количества телоцитов с количеством зрелого фибриллярного коллагена I типа, что также соответствует нашим результатам. Тем не менее, среднее количество телоцитов у наших пациентов было меньше, что, по-види-

мому, можно объяснить не только наличием у них ХСН, но и ФП. Этот факт подтверждается значимой отрицательной корреляционной связью количества телоцитов с данным заболеванием. В нашей работе была также доказана отрицательная корреляция количества телоцитов с воспалительными маркерами.

Доказано также, что количество телоцитов уменьшается при инфаркте миокарда [9]. Клетки принимают непосредственное участие в ремоделировании предсердий при амилоидозе [10]. Известно, что их количество в левом желудочке уменьшается более чем в 3 раза при системном склерозе [11]. Последними авторами количество телоцитов подсчитывалось при увеличении 400, как и в нашем исследовании. Среднее количество телоцитов в левом желудочке в контрольной группе (пациенты без патологии сердца) было около 30, что соответствует данным Richter M. и Kostin S. (2015). Считается, что в разных отделах сердца количество телоцитов распределяется по-разному. Так, в предсердиях их больше, чем в желудочках [12]. Большее количество телоцитов находится и ближе к эпикарду [13, 14]. Возможно, этот факт можно объяснить тем, что в эмбриональном периоде эти клетки сопровождают пролиферирующие “кардиомиоцитарные почки”, перемещающиеся из эпикарда в просвет желудочков. Интерстициальным пейсмекерам отводят важную роль в формировании адекватной архитектуры миокарда, без которой невозможно проведение электрического импульса [15]. Наша работа также подтверждает правило неравномерного распределения этих клеток в сердце. По сравнению с синусным узлом при одном и том же методе подсчета [16], количество телоцитов в левом предсердии в 2 раза меньше.

Многие авторы отмечают, что варьирует не только количество, но и иммунофенотип интерстициальных пейсмекеров. Причем не только в зависимости от органа, но и от его части. Найдены различия иммунофенотипа телоцитов в эпикарде и миокарде [17]. Возможно, именно поэтому многие авторы предпочитают идентифицировать интерстициальные пейсмекеры в миокарде с помощью двойной иммуногистохимической метки CD34/S100 и CD34/*vimentin*, а CD117 считают дополнительным маркером при рутинной световой микроскопии, как и показало наше исследование.

Несколько исследований показали, что телоциты обладают пейсмекерной активностью в миоэпикарде, стенке желудочно-кишечного, респираторного и мочевыводящих трактов, соответственно кажется логически обоснованным предположение об их аналогичной роли в сердце [18, 19]. В настоящее время способность телоцитов проводить ионные токи мало изучена. Тем не менее, Sheng J, et al. [18] обнаружили в этих клетках функционально-компетентные K+

каналы. Авторы считают, что их модуляция может иметь значительные последствия в электрофизиологии сердца. В этой связи уменьшение количества телоцитов при ФП может косвенно свидетельствовать о роли этих клеток в стабилизации проведения электрического импульса.

Заключение

С помощью иммуногистохимического метода, электронной и лазерной конфокальной микроскопии в рабочем миокарде ЛП у пациентов с ФП и без нее было доказано наличие телоцитов. При этом количе-

ство интерстициальных пейсмекерных клеток у пациентов с длительно персистирующей ФП было в 3 раза достоверно меньше, чем у больных без нее и имело значимые отрицательные корреляционные связи как с наличием данного нарушения ритма, так и с площадью фиброза, липоматоза и лимфоцитарной инфильтрацией. Таким образом, развитие воспаления и фиброза при ФП сопровождается потерей телоцитов.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Hinescu ME, Gherghiceanu M, Mandache E et al. Interstitial Cajal-like cells (ICLC) in human atrial myocardium. *J. Cell. Mol. Med.* 2005;9(4):972-5. doi:10.1111/j.1582-4934.2006.tb00306.x.
- Cretoi D, Hummel E, Zimmermann H et al. Human cardiac telocytes: 3D imaging by FIB-SEM tomography. 2014 *J. Cell. Mol. Med.* 2014;18(11):2157-64. doi:10.1111/jcmm.12468.
- Gherghiceanu M, Popescu LM. Cardiac telocytes — their junctions and functional implications. *Cell Tissue Res.* 2012;348:265-79. doi:10.1007/s00441-012-1333-8.
- Gherghiceanu M, Popescu LM. Cardiomyocyte precursors and telocytes in epicardial stem cell niche. *J Cell Mol Med.* 2010;14:871-7. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01060.x.
- Kostin S, Popescu LM. A distinct type of cell in myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLCs). *J. Cell. Mol. Med.* 2009;13(2):296-309. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00668.x.
- Mitrofanova LB, Orshanskaya VS, Ho SY, Platonov PG. Histological evidence of inflammatory reaction associated with fibrosis in the atrial and ventricular walls in a case-control study of patients with history of atrial fibrillation. *Europace.* 2016;18(suppl 4): iv156-iv162 doi: 10.1093/europace/euw361.
- Isakov SV, Baghdasaryan AU, Gordeev ML. Operation MAZE IV: The technique of a modified version. *Cardiology and cardiovascular surgery.* 2017;10(5):12-15. doi:10.17116/kardio201710512-15.
- Richter M., Kostin S. The failing human heart is characterized by decreased numbers of telocytes as result of apoptosis and altered extracellular matrix composition. *J. Cell. Mol. Med.* 2015;19(11):2597-606. doi:10.1111/jcmm.12664.
- Zhao B, Chen S, Liu J et al. Cardiac telocytes were decreased during myocardial infarction and their therapeutic effects for ischaemic heart in rat. *J Cell Mol Med.* 2013;17(1):123-33. doi:10.1111/j.1582-4934.2012.01655.x.
- Mandache E, Gherghiceanu M, Macarie C et al. Telocytes in human isolated atrial amyloidosis: ultrastructural remodeling. *J Cell Mol Med.*2010;14:2739-47. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01200.x.
- Manetti M, Rosa I, Messerini L et al. A loss of telocytes accompanies fibrosis of multiple organs in systemic sclerosis. *J Cell Mol Med.* 2014;18:253-62. doi:10.1111/jcmm.12228.
- Hinescu ME, Gherghiceanu M, Mandache E et al. Interstitial Cajal-like cells (ICLC) in atrial myocardium: ultrastructural and immunohistochemical characterization. *J Cell Mol Med.* 2006;10(1):243-57. doi:10.1111/j.1582-4934.2006.tb00306.x.
- Liu JJ, Shen XT, Zheng X et al. Distribution of telocytes in the rat heart. *J Clin Rehabil Tiss Eng Res.* 2011;15:3546-8. doi:10.1007/s00441-012-1333-8.
- Kostin S. Cardiac telocytes in normal and diseased hearts. *Semin Cell Dev Biol.* 2016;55:22-30. doi:10.1016/j.semcdb.2016.02.023.
- Bani D, Formigli L, Gherghiceanu M et al. Telocytes as supporting cells for myocardial tissue organization in developing and adult heart. *J Cell Mol Med.* 2010;14(10):2531-8. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01119.x.
- Mitrofanova LB, Gorshkov AN, Konovalov PV et al. Telocytes in human sino-atrial node. Morphological evidence of pacemaker cell activity and the ability to conduct an electrical impulse. *Russian Journal of Cardiology.* 2017;22(9):42-9. doi:10.15829/1560-4071-2017-9-42-49.
- Popescu LM, Gherghiceanu M, Hinescu ME, et al. Insights into the interstitium of ventricular myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLC). *J. Cell. Mol. Med.* 2006;10(2):429-58. doi:10.1111/j.1582-4934.2006.tb00410.x.
- Yang J, Li Y, Xue F, et al. Exosomes derived from cardiac telocytes exert positive effects on endothelial cells. *Am J Transl Res.* 2017;9(12):5375-87.
- Banciu DD, Banciu A, Radu BM. Electrophysiological Features of Telocytes. In: Wang X., Cretoi D. (eds) *Telocytes. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 913. Springer, Singapore, 2016. doi:10.1007/978-981-10-1061-3_19.
- Sheng J, ShimW, Lu J, et al. Electrophysiology of human cardiac atrial and ventricular telocytes. *J. Cell. Mol. Med.* 2014;18(2):355-62. doi:10.1111/jcmm.12240.