

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

Роль коннексина 43 в ремоделировании межклеточных контактов кардиомиоцитов при гипертрофической кардиомиопатии

Т.В. Сухачева^{1,2}, Р.А. Серов¹, Н.В. Низяева², А.А. Ахметшина², Л.А. Бокерия¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева Минздрава России, Москва, Россия;

² Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. В биологии клеточных взаимодействий особую роль играют межклеточные щелевые контакты. Изменение их структуры и расположения может привести к изменению ряда биологических функций, в том числе к нарушению распространения электрического импульса, что в первую очередь важно для работы миокарда.

Цель — оценка морфологических особенностей и локализации коннексин 43-содержащих (Cx43⁺) щелевых контактов и определение их взаимосвязи с изменениями морфологии миокарда межжелудочковой перегородки и клиническими параметрами пациентов с гипертрофической кардиомиопатией.

Материалы и методы. Проведено морфометрическое и иммуногистохимическое исследование миокарда межжелудочковой перегородки пациентов с гипертрофической кардиомиопатией ($n=62$, возраст от 18 до 61 года) в сравнении с группой лиц без сердечно-сосудистой патологии ($n=8$, возраст от 25 до 54 лет). Пациентам с гипертрофической кардиомиопатией выполнена резекция миокарда межжелудочковой перегородки со стороны правого желудочка. В кардиомиоцитах выявлены Cx43⁺-щелевые контакты, определена их локализация и ультраструктурная организация. Полученные данные сопоставлены с клиническими параметрами пациентов с гипертрофической кардиомиопатией.

Результаты. В миокарде межжелудочковой перегородки пациентов с гипертрофической кардиомиопатией обнаружено перераспределение Cx43⁺-щелевых контактов из вставочных дисков на боковые поверхности кардиомиоцитов. Изменение локализации щелевых контактов встречается чаще и в большем объёме у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией по сравнению с контрольной группой и характерно для пациентов с наиболее тяжёлым морфо-функциональным состоянием сердца, по результатам эхокардиографического обследования — со значительным утолщением межжелудочковой перегородки и уменьшением объёма полости левого желудочка. Морфологически комплексное ремоделирование миокарда проявляется в гипертрофии кардиомиоцитов и явлениях частичной утраты в них миофибрилл. На ультраструктурном уровне в миокарде 28,1% пациентов с гипертрофической кардиомиопатией обнаружены дефекты щелевых контактов: зоны локальных расхождений мембран вставочного диска кардиомиоцитов и аномальные кольцевые структуры, образованные инвагинациями сарколеммы, содержащей щелевые контакты.

Заключение. Расположение Cx43⁺-щелевых контактов на боковых поверхностях кардиомиоцитов и изменение их ультраструктуры является признаком незрелости кардиомиоцитов межжелудочковой перегородки, характерным для пациентов с гипертрофической кардиомиопатией и может быть причиной нарушения электромеханического сопряжения миокарда.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия; кардиомиоциты; межклеточные взаимодействия; щелевые контакты; коннексин 43.

Как цитировать:

Сухачева Т.В., Серов Р.А., Низяева Н.В., Ахметшина А.А., Бокерия Л.А. Роль коннексина 43 в ремоделировании межклеточных контактов кардиомиоцитов при гипертрофической кардиомиопатии // Морфология. 2024. Т. 162. № 3. С. 238–247. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

The role of connexin 43 in remodeling cardiomyocyte intercellular contacts in hypertrophic cardiomyopathy

Tatiana V. Sukhacheva^{1, 2}, Roman A. Serov¹, Natalya V. Nizyaeva²,
Alina A. Akhmetshina², Leo A. Bockeria¹

¹ Bakulev Center for cardiovascular surgery of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;

² Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Intercellular gap junctions play a special role in the biology of cellular interactions. Their structural and dispositional changes can affect some biological functions, including disruption of electrical pulse propagation, which is primarily important for myocardial function.

AIM: The aim was to evaluate the morphological characteristics and localization of connexin 43-containing (Cx43⁺) gap — junctions and to determine their association with changes in myocardial morphology of the interventricular septum and clinical parameters in patients with hypertrophic cardiomyopathy.

MATERIALS AND METHODS: Morphometry and immunohistochemistry of interventricular septal myocardium were performed in patients with hypertrophic cardiomyopathy ($n = 62$, aged 18 to 61 years) compared with subjects without cardiovascular disease ($n = 8$, aged 25 to 54 years). Resection of the interventricular septum of the right ventricle was performed in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Cx43⁺ gap junctions were identified in cardiomyocytes and their location and ultrastructural arrangement were determined. The data obtained were compared with clinical parameters of patients with hypertrophic cardiomyopathy.

RESULTS: In the interventricular septal myocardium of patients with hypertrophic cardiomyopathy, a redistribution of Cx43⁺ gap junctions from intercalated discs to the lateral surfaces of cardiomyocytes was observed. Gap junction changes are more frequent and more extensive in patients with hypertrophic cardiomyopathy than in the control group. They are typical of patients with the most severe morphological and functional cardiac condition, as evidenced by echocardiographic data such as significant thickening of the interventricular septum and a decrease in the volume of the left ventricular cavity. Morphologically complex remodeling of the myocardium is manifested by hypertrophy of the cardiomyocytes and partial loss of their myofibrils. Ultrastructurally, 28.1% of patients with hypertrophic cardiomyopathy had gap junction defects in the myocardium such as sites of localized divergence of intercalated disc membranes and abnormal ring structures formed by invaginations of gap junction-containing sarcolemma.

CONCLUSION: The location of Cx43⁺ gap junctions on the lateral surfaces of cardiomyocytes and changes in their ultrastructure suggest cardiomyocyte immaturity of the interventricular septum, which is typical of patients with hypertrophic cardiomyopathy and may cause a disruption of the electromechanical coupling of the myocardium.

Keywords: hypertrophic cardiomyopathy; cardiomyocytes; intercellular interactions; gap junctions; connexin 43.

To cite this article:

Sukhacheva TV, Serov RA, Nizyaeva NV, Akhmetshina AA, Bockeria LA. The role of connexin 43 in remodeling cardiomyocyte intercellular contacts in hypertrophic cardiomyopathy. *Morphology*. 2024;162(3): 238–247. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

Submitted: 03.08.2024

Accepted: 25.09.2024

Published: 04.10.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

连接蛋白43在肥厚型心肌病心肌细胞间接接触重塑中的作用

Tatiana V. Sukhacheva^{1,2}, Roman A. Serov¹, Natalya V. Nizyaeva²,
Alina A. Akhmetshina², Leo A. Bockeria¹

¹ Bakulev Center for cardiovascular surgery of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;

² Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

摘要

论证。在细胞相互作用的生物学中，细胞间间隙连接发挥着特殊的作用。它们的结构和功能的变化可以导致一系列生物功能的变化，包括电脉冲传播的破坏，这对于心肌功能是首当其冲的。

目的 — 评估肥厚型心肌病患者含连接蛋白43 (Cx43) 的缝隙连接的形态学特征和定位，并确定其与室间隔心肌形态学变化和临床参数的关系。

材料和方法。对肥厚型心肌病患者 ($n=62$, 年龄在18至61岁之间) 与无心血管病患者 ($n=8$, 年龄在25至54岁之间) 的室间隔心肌进行了形态计量学和免疫组化研究。肥厚型心肌病患者接受了右心室室间隔心肌切除术。在心肌细胞中检测到了Cx43⁺缝隙连接，并确定了它们的定位和超微结构组织。获得的数据与肥厚型心肌病患者的临床参数进行了比较。

结果。在肥厚型心肌病患者的室间隔心肌中发现，Cx43⁺缝隙连接从闰盘重新分布到心肌细胞的外侧表面。根据超声心动图检查的结果，肥厚型心肌病患者的室间隔明显增厚，左心室腔容积缩小。肥厚型心肌病患者的缝隙连接位置变化比对照组更频繁，体积也更大，是心脏形态功能状态最严重的患者的特征。形态学上复杂的心肌重塑表现为心肌细胞肥大和肌原纤维部分丧失的现象。在28.1%的肥厚型心肌病患者的心肌超微结构中发现缝隙连接缺陷：心肌细胞闰盘膜的局部分叉区和含有缝隙连接的肌纤维膜内陷形成的异常环状结构。

结论。心肌细胞外侧表面的Cx43⁺缝隙连接位置及其超微结构的变化是室间隔心肌细胞不成熟的标志，是肥厚型心肌病患者的特征，可能是心肌机电耦合失调的原因。

关键词：肥厚型心肌病；心肌细胞；细胞间相互作用；缝隙连接；连接蛋白43。

To cite this article:

Sukhacheva TV, Serov RA, Nizyaeva NV, Akhmetshina AA, Bockeria LA. 连接蛋白43在肥厚型心肌病心肌细胞间接接触重塑中的作用. *Morphology*. 2024;162(3): 238–247. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.634829>

收到: 03.08.2024

接受: 25.09.2024

发布日期: 04.10.2024

ОБОСНОВАНИЕ

В биологии клеточных взаимодействий особое место занимают межклеточные щелевые контакты, изменение их структуры и функции может привести к изменению ряда биологических функций клеток (адгезии, инвазии, нарушению электрической проводимости), что влечёт за собой нарушение, в том числе, сократительной деятельности. Специфические межклеточные щелевые контакты между кардиомиоцитами (КМЦ) необходимы для проведения электрических импульсов в сердце, а также для синхронизации сокращений миокарда. Щелевые контакты размещаются на продольных участках вставочных дисков и обеспечивают распространение электрического импульса в интактном миокарде по длинной стороне кардиомиоцитов. Проницаемость щелевых контактов регулируется изменением клеточного pH, концентрацией ионов кальция или непосредственным фосфорилированием и убиквитинированием коннексинов [1]. Фосфорилирование коннексина 43 (Cx43) — основного компонента щелевых контактов КМЦ желудочка — регулируется действием более десяти киназ и фосфатаз, влияет на синтез и сборку белка и электропроводность щелевых контактов [2]. В желудочковых КМЦ Cx43-содержащие щелевые контакты преимущественно расположены во вставочных дисках, а в предсердных кардиомиоцитах они также могут быть распределены вдоль боковой поверхности миоцитов [3]. Кроме плазматической мембраны, Cx43 локализуется на внутренней мембране митохондрий и влияет на дыхание и образование активных форм кислорода в клетке [1].

В неонатальных КМЦ компоненты вставочного диска — щелевые контакты и десмосомоподобные контакты — не связаны друг с другом и располагаются по всей поверхности КМЦ. По мере дифференцировки КМЦ они группируются и перемещаются к поперечным концам клеток с образованием полноценного вставочного диска. Для обеспечения механической связи и проведения электрического импульса между КМЦ необходимы согласованные действия комплекса всех компонентов вставочного диска: коннексинов, десмосом и десмосомоподобных клеточных контактов (*fasciae adherentes*), нарушения которых могут способствовать возникновению как нарушения ритма сердца, так и сердечной недостаточности [4].

В миокарде пациентов с сердечно-сосудистой патологией обнаружено перемещение коннексин-содержащих щелевых контактов на боковые поверхности сарколеммы КМЦ. Такие изменения выявлены в КМЦ пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) [5, 6], в КМЦ околоинфарктной зоны левого желудочка (ЛЖ) больных ишемической болезнью сердца (ИБС) [7], аритмогенной кардиомиопатией [8], а также в экспериментальных исследованиях [4, 9, 10]. Перемещение щелевых контактов на боковые поверхности сарколеммы КМЦ происходит в рамках комплексной перестройки клетки и сопровождается перемещением и других компонентов вставочного диска [6].

ЦЕЛЬ

Оценить ультраструктуру и локализацию Cx43-содержащих щелевых контактов и определить взаимосвязи с изменением морфологии КМЦ межжелудочковой перегородки (МЖП) и клиническими параметрами миокарда МЖП пациентов с ГКМП в сравнении с контрольной группой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одноцентровое ретроспективное выборочное контролируемое нерандомизированное исследование.

Критерии соответствия

Критерием для включения в исследование взрослых пациентов с обструктивной формой ГКМП стала толщина МЖП более 10 мм. В группе сравнения у лиц, умерших от причин, не связанных с сердечно-сосудистой патологией, или травм, не совместимых с жизнью, толщина МЖП не превышала 10 мм.

Критерием исключения явилось наличие у больных тяжёлой сопутствующей патологии внутренних органов и головного мозга.

Условия проведения

Материал получен в ходе операций, проведённых академиком РАН, д.м.н., профессором Л.А. Бокерия в ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Россия.

Продолжительность исследования

Материал был набран по мере отбора пациентов и исследован одновременно в соответствии с протоколом.

Описание медицинского вмешательства

Пациентам с ГКМП проведена операция резекции миокарда МЖП (миоэктомии) со стороны правого желудочка (ПЖ) по Л.А. Бокерии [11].

Основной исход исследования

Проведено иммуногистохимическое выявление Cx43-содержащих щелевых контактов и электронно-микроскопическое исследование щелевых контактов в КМЦ МЖП.

Дополнительные исходы исследования

Характеристика миокарда МЖП получена при его морфометрическом исследовании — оценке диаметра КМЦ

Анализ в группах

В исследование включены пациенты с обструктивной формой ГКМП и лица, умершие от причин, не связанных с сердечно-сосудистой патологией, или травм, не совместимых с жизнью.

Методы регистрации исходов

Для морфометрического исследования миокарда и иммуногистохимического выявления Сх43-содержащих щелевых контактов фрагменты миокарда МЖП фиксировали 10% забуференным формалином (рН 7,4; Bio-Optica, Италия) заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм. Затем срезы обрабатывали 3% раствором H_2O_2 , раствором трипсина (Sigma, США) и инкубировали с кроличьими моноклональными антителами к Сх43 человека (Sigma, США), затем инкубировали с раствором HRP Rabbit/Mouse (ChemMate™ DAKO EnVision™/HRP, Rabbit/Mouse, DAKO, США). Далее препараты обрабатывали раствором 3,3'-тетрахлорида диаминобензидина (ChemMate™ DAB+Chromogen, ChemMate™ Substrate Buffer, DAKO, США) до появления коричневого окрашивания и докрашивали гематоксилином Майера. В качестве отрицательного контроля проводили иммуногистохимическую реакцию без инкубации с первичными антителами; для положительного контроля использовали окрашивание вставочных дисков КМЦ на срезах миокарда желудочков в соответствии со спецификацией фирмы-производителя. Для оценки локализации Сх43⁺-щелевых контактов на продольных срезах, проходящих через ядро и вставочные диски, не менее чем в 50 КМЦ с помощью морфометрической программы ImagePro измеряли протяжённость Сх43⁺-участков сарколеммы на боковых поверхностях КМЦ, диаметр и длину КМЦ ($\times 630$). Подсчитывали отношение суммарной протяжённости Сх43⁺-щелевых контактов на боковых поверхностях КМЦ к удвоенной длине миоцита и выражали в процентах (относительная протяжённость). Количественные показатели представляли в виде медианы с указанием первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]).

Кроме того, на продольных срезах КМЦ, проходящих через ядро, по 4-балльной шкале оценивали содержание миофибрилл ($\times 400$): миофибриллы занимают менее 50% саркоплазмы (МФ-0); 50–75% саркоплазмы (МФ-1); 75–90% саркоплазмы КМЦ (МФ-2); более 90% саркоплазмы заполнено миофибриллами (МФ-3). Полученные данные представляли для каждого пациента в виде интегрального показателя содержания миофибрилл (медианы) и выражали в процентах.

Для электронно-микроскопического исследования КМЦ пациентов с ГКМП фрагменты МЖП 48 пациентов фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида и 1% параформальдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), дофиксировали в 1,5% растворе четырёх-окси осмия (OsO_4), обезвоживали и заливали в аралдит. Затем с помощью ультратома UltraCut (Leica, Германия) изготавливали ультратонкие срезы толщиной 30–70 нм, контрастировали их уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали под электронным микроскопом Philips CM 100 (Нидерланды). Методом электронной микроскопии оценивали наличие и распространённость щелевых контактов во вставочных дисках и на продольных поверхностях КМЦ.

Этическая экспертиза

Настоящее исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава РФ (протокол заседания № 3 от 22.06.2023). Исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники исследования до включения в исследование добровольно подписали форму информированного согласия, утверждённую в составе протокола исследования этическим комитетом.

Статистический анализ

Принципы расчёта размера выборки. Полученные результаты морфологического исследования миокарда группы пациентов с ГКМП и контрольной группы сопоставляли между собой и с данными клинического обследования пациентов. Использован максимально возможный размер выборки.

Методы статистического анализа данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica v. 10 (StatSoft, Inc., США). Различия между показателями пациентов с ГКМП и данными контрольной группы оценивали при помощи U-критерия Манна–Уитни при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического коэффициента Спирмена (при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты исследования

В исследование включены 62 пациента с обструктивной формой ГКМП, толщина МЖП которых составила 24,5 [20,0; 27,0] мм, конечный систолический объём (КСО) и конечный диастолический объём (КДО) ЛЖ — 19,0 [14,4; 29,0] мл и 71,5 [62,0; 93,0] мл, градиент давления на митральном клапане — 3,4 [3,0; 4,2] мм рт. ст., фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) — 75 [71; 80]%. В качестве группы сравнения исследован миокард МЖП той же локализации 8 лиц, умерших от причин, не связанных с сердечно-сосудистой патологией, или травм, не совместимых с жизнью.

Основные результаты исследования

Контрольная группа. Иммуногистохимическое исследование продемонстрировало, что в КМЦ контрольной группы Сх43⁺-щелевые контакты преимущественно располагались во вставочных дисках, на боковых поверхностях КМЦ встречались только небольшие участки щелевых контактов (рис. 1, а). Суммарная протяжённость боковых Сх43⁺-щелевых контактов в КМЦ составила 5,2 [4,7; 7,3] мкм, относительная протяжённость — 4,1 [3,4; 6,5] (рис. 2, а, б). Относительная протяжённость щелевых контактов в контрольной группе не коррелировала с возрастом пациентов, диаметром и длиной КМЦ, содержанием миофибрилл в КМЦ, что предполагает завершение дифференцировки КМЦ у этих пациентов.

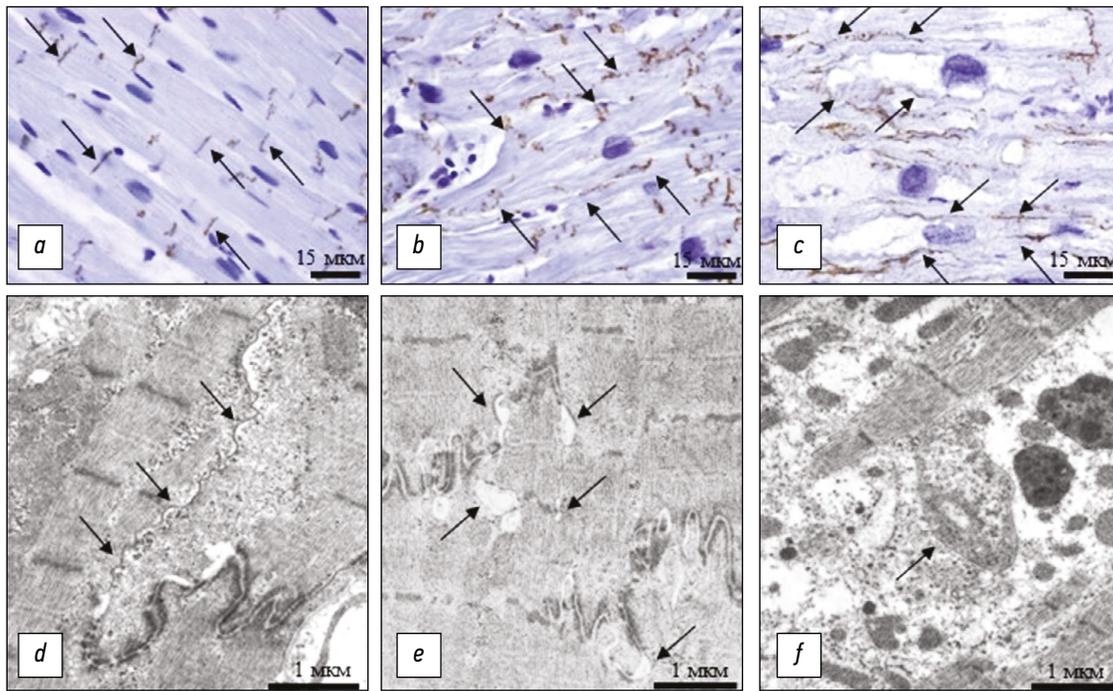


Рис. 1. Щелевые контакты в кардиомиоцитах межжелудочковой перегородки пациентов с гипертрофической кардиомиопатией: *a* — Cx43⁺-щелевые контакты во вставочных дисках кардиомиоцитов. Контрольная группа. Пациент 54 лет; *b* — кардиомиоциты полигональной формы. Множественные дополнительные вставочные диски, содержащие Cx43⁺-щелевые контакты, на боковых поверхностях кардиомиоцитов. Пациент с гипертрофической кардиомиопатией 27 лет; *c* — кардиомиоциты с выраженной утратой миофибрилл. Cx43⁺-щелевые контакты (стрелки) располагаются диффузно по всей поверхности кардиомиоцитов. Пациент с гипертрофической кардиомиопатией 44 лет; *d* — щелевой контакт (стрелки) на продольном участке вставочного диска кардиомиоцитов. Пациент с гипертрофической кардиомиопатией 58 лет; *e* — зоны локальных расхождений продольных участков вставочного диска кардиомиоцитов (стрелки). Пациент с гипертрофической кардиомиопатией 59 лет; *f* — кольцевые участки инвагинаций мембран на боковых поверхностях миоцита, содержащих щелевые контакты (стрелка), гранулы липофуцина. Пациент с гипертрофической кардиомиопатией 39 лет. *a-c* — иммунопероксидазная реакция, антитела к Cx43, докраска гематоксилином; *d-f* — электронные микрофотографии.

Fig. 1. Gap junctions in cardiomyocytes of the interventricular septum of patients with hypertrophic cardiomyopathy: *a* — Cx43⁺-gap junctions in the intercalated discs of the cardiomyocytes. Control group. A 54-year-old patient; *b* — polygonal cardiomyocytes. Multiple additional intercalated discs containing Cx43⁺-gap junctions on the lateral surfaces of the cardiomyocytes. A 27-year-old patient with hypertrophic cardiomyopathy; *c* — cardiomyocytes with pronounced loss of myofibrils. Cx43⁺-gap junctions (arrows) are diffusely located over the entire surface of the cardiomyocytes. A 44-year-old patient with hypertrophic cardiomyopathy; *d* — gap junction (arrows) on the longitudinal section of the intercalated disc of the cardiomyocytes. A 58-year-old patient with hypertrophic cardiomyopathy; *e* — areas of local divergence of longitudinal parts of the intercalated disc of the cardiomyocytes (arrows). A 59-year-old patient with hypertrophic cardiomyopathy; *f* — annular areas of membrane invaginations on the lateral surfaces of the myocyte containing gap junctions (arrow), lipofuscin granules. A 39-year-old patient with hypertrophic cardiomyopathy. *a-c* — immunoperoxidase reaction, antibodies to Cx43; *d-f* — electron micrographs.

Пациенты с ГКМП. В большинстве КМЦ пациентов с ГКМП Cx43⁺-щелевые контакты были обнаружены во вставочных дисках, а также на боковых поверхностях миоцитов, где они располагались пунктирно или протяжёнными зонами (рис. 1, *b, c*). У пациентов с умеренной и выраженной утратой миофибрилл (МФ-1 и МФ-0) продемонстрирована диффузная локализация Cx43⁺-щелевых контактов по всей поверхности сарколеммы КМЦ, подобно низкокодифференцированным КМЦ. В зонах непараллельного расположения миофибрилл в КМЦ полигональной формы Cx43⁺-щелевые контакты располагались во вставочных дисках, а также в участках дополнительных вставочных дисков и на боковых поверхностях КМЦ. Таким образом, у пациентов с ГКМП Cx43⁺-контакты

обеспечивали взаимодействие по типу «сторона к стороне» между соседними КМЦ. Суммарная протяжённость Cx43⁺-боковых контактов у пациентов с ГКМП составила 16,5 [10,5; 26,1] мкм, относительная их протяжённость — 9,7 [7,7; 14,7]% (рис. 2, *a, b*). Эти показатели перераспределения щелевых контактов из вставочных дисков на боковые поверхности КМЦ статистически значимо превышали данные контрольной группы ($p < 0,05$). Относительная протяжённость Cx43⁺-щелевых контактов у пациентов с ГКМП коррелировала с увеличением диаметра КМЦ ($r=0,60$; $p_5=0,000002$) и длины КМЦ ($r=0,50$; $p_5=0,00004$) и низким содержанием в них миофибрилл ($r=-0,40$; $p_5=0,001$) и обратно коррелировала с возрастом больных ($r=-0,26$; $p_5=0,037$) (рис. 2, *c*). По данным эхокардиографического

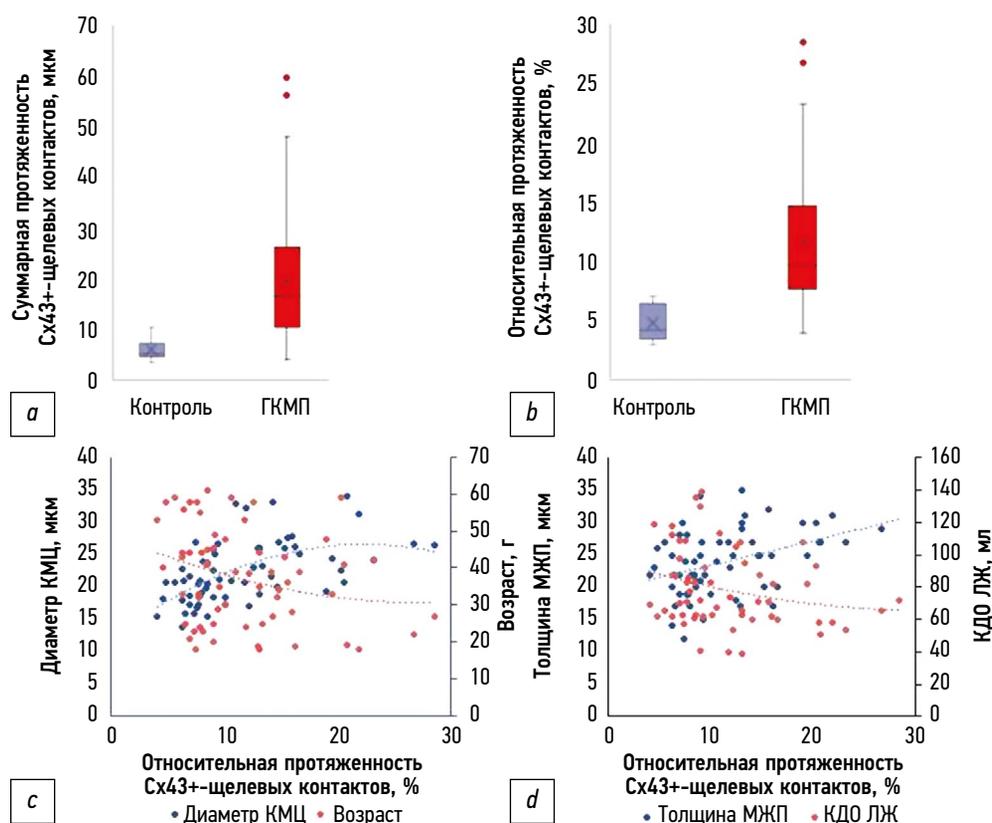


Рис 2. Суммарная (а) и относительная (б) протяжённости Cx43⁺-щелевых контактов в кардиомиоцитах пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. Корреляции относительной протяжённости Cx43⁺-щелевых контактов в кардиомиоцитах пациентов с гипертрофической кардиомиопатией с диаметром кардиомиоцитов и возрастом пациентов (с, $r=0,60$; $p<0,0001$ и $r=-0,26$; $p=0,038$) и толщиной межжелудочковой перегородки и конечный диастолический объём левого желудочка (d, $r=0,38$; $p=0,004$ и $r=-0,28$; $p=0,036$).

Fig. 2. Total (a) and relative (b) length of Cx43⁺ gap junctions in the cardiomyocytes of patients with hypertrophic cardiomyopathy. Correlations of the relative length of Cx43⁺ gap junctions in the cardiomyocytes of patients with hypertrophic cardiomyopathy with the cardiomyocytes diameter and the age of patients (c, $r=0.60$; $p<0.0001$ and $r=-0.26$; $p=0.038$) and the interventricular septum thickness and left ventricular end-diastolic volume (d, $r=0.38$; $p=0.004$ and $r=-0.28$; $p=0.036$).

обследования, латеральное положение щелевых контактов было характерно для пациентов с наиболее тяжёлым функциональным состоянием сердца: утолщённой МЖП ($r=0,38$; $p_S=0,004$), уменьшенным КДО ЛЖ ($r=-0,28$; $p_S=0,036$) (рис. 2, d) и высоким градиентом давления на митральном клапане ($r=0,78$; $p_S=0,004$).

На ультраструктурном уровне продемонстрировано, что у пациентов с ГКМП в зрелом вставочном диске КМЦ щелевые контакты располагались на продольных частях вставочного диска (см. рис. 1, d). В миокарде 28,1% взрослых пациентов с ГКМП обнаружены зоны локального расхождения мембран вставочного диска КМЦ на его продольных участках (см. рис. 1, e), по-видимому, связанные с дефектом щелевых контактов или перемещением их на боковые поверхности КМЦ. Кроме того, в саркоплазме КМЦ зарегистрированы кольцевые структуры, образованные за счёт инвагинации участков латеральной мембраны КМЦ, содержащих щелевые контакты (см. рис. 1, f). Подобные изменения локализации и структуры щелевых контактов во вставочных дисках, по-видимому, могут приводить к нарушению как механического, так и электрического сопряжения соседних КМЦ.

Дополнительные результаты исследования

Контрольная группа. Диаметр КМЦ контрольной группы составил 13,4 [12,6; 16,3] мкм, длина КМЦ — 63,3 [57,6; 68,5] мкм. Содержание миофибрилл в КМЦ не коррелировало с возрастом. Доля КМЦ с МФ-2 и МФ-3 (75% и 16%) возрастала, а доля КМЦ с МФ-1 (8%) снижалась по мере увеличения диаметра клеток.

Пациенты с ГКМП. Диаметр КМЦ пациентов с ГКМП составил 21,4 [18,7; 25,9] мкм, длина КМЦ — 79,9 [69,1; 91,9] мкм. У пациентов с ГКМП КМЦ с умеренной и выраженной утратой миофибрилл (МФ-1 и МФ-0) составили 20,3% и 2,2% КМЦ соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Проведено иммуногистохимическое выявление Cx43-содержащих щелевых контактов и электронно-микроскопическое исследование щелевых контактов в КМЦ МЖП, морфометрическое исследование миокарда МЖП. В КМЦ МЖП контрольных пациентов щелевые клеточные контакты преимущественно локализованы во вставочных дисках

КМЦ. В КМЦ пациентов с ГКМП отмечено ремоделирование $Sx43^+$ -щелевых контактов с перераспределением их из вставочных дисков на боковые поверхности КМЦ, которое происходило статистически значимо чаще и занимало большую площадь поверхности КМЦ у пациентов с ГКМП, чем в контрольной группе.

Обсуждение основного результата исследования

В процессе онтогенетического развития плотность расположения и локализация щелевых контактов в КМЦ претерпевают существенные изменения: в неонатальных КМЦ $Sx43^+$ -щелевые контакты располагаются по всей поверхности КМЦ, по мере формирования вставочных дисков между миоцитами начинается перемещение щелевых контактов к поперечным концам клетки во вставочные диски [3]. Локализация $Sx43^+$ -щелевых контактов во вставочных дисках является одним из критериев достижения КМЦ дифференцированного состояния. Отсутствие в КМЦ пациентов контрольной группы корреляции между плотностью $Sx43^+$ -щелевых контактов на боковых поверхностях КМЦ, размером КМЦ и содержанием в них миофибрилл подтверждает завершение дифференцировки КМЦ контрольной группы. В свою очередь, выраженность относительной протяжённости $Sx43^+$ -щелевых контактов на боковых поверхностях КМЦ свидетельствует о незавершенной дифференцировке КМЦ или их частичной дедифференцировке при сердечно-сосудистой патологии.

При ГКМП ремоделирование $Sx43^+$ -щелевых контактов отмечено в миокарде МЖП у наиболее тяжёлых, по данным эхокардиографического обследования, пациентов — с утолщённой МЖП, небольшим КДО ЛЖ и высоким градиентом давления на митральном клапане. Важно отметить, что локализация $Sx43^+$ -контактов на боковых поверхностях КМЦ чаще встречается в гипертрофированных миоцитах с низким содержанием миофибрилл и недостаточной дифференцировкой вставочных дисков. Можно предположить, что гипертрофия КМЦ МЖП в сочетании с незрелостью сократительного аппарата и нарушением распределения $Sx43^+$ -щелевых контактов является причиной частых эпизодов нарушения ритма сердца. Известно, что у 66% больных с ГКМП на ЭКГ регистрируются нарушения ритма сердца, в том числе, желудочковая экстрасистолия, атриовентрикулярная блокада и фибрилляция предсердий [12], требующие имплантации кардиостимулятора. Подобная аритмогенная перестройка миокарда у пациентов с ГКМП часто сопровождается значительным фиброзированием интерстициальной ткани. Максимальный объём фиброзно-изменённого миокарда зарегистрирован в группе пациентов с ГКМП и фибрилляцией предсердий, как показано методом магнитно-резонансной томографии сердца с ЭКГ-синхронизацией до и после контрастирования препаратом, содержащим гадолиний [12].

Считается, что в гипертрофированном миокарде изменение топографии щелевых контактов, ответственных

за электромеханическое сопряжение соседних КМЦ, необходимо для увеличения общей площади и количества контактов, в пересчёте на один КМЦ [5]. У пациентов с ГКМП относительная протяжённость расположенных на боковых сторонах КМЦ $Sx43^+$ -контактов выше, чем в контрольной группе, что, по-видимому, отражает снижение дифференцировки КМЦ и является признаком неспецифической компенсаторно-приспособительной перестройки миокарда, работающего в условиях перегрузки. Подобные изменения описаны в миокарде ЛЖ больных ИБС и ГКМП [7], стенозом аортального клапана и регургитацией на митральном клапане [13]. Кроме того, у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и нарушениями ритма выявлено уменьшение количества $Sx43^+$ -щелевых контактов [8].

Результаты экспериментальных исследований экспрессии и локализации $Sx43$ в миокарде продемонстрировали перемещение $Sx43^+$ -щелевых контактов на боковые поверхности КМЦ и снижение экспрессии $Sx43$ более чем на 40% по сравнению с контролем при разных вариантах сердечно-сосудистой патологии [9, 10]. Например, сходную картину латерального расположения $Sx43^+$ -щелевых контактов наблюдали у крыс с экспериментально индуцированной лёгочной гипертензией и гипертрофией миокарда ПЖ и ЛЖ [4], в миокарде ЛЖ собак с аритмогенной сердечной недостаточностью [14]. Кроме того, С.М. Ripplinger и соавт. продемонстрировали изменение плотности $Sx43^+$ -щелевых контактов по сравнению с контролем в миокарде кроликов — носителей мутаций генов, специфических для ГКМП (сердечного тропонина I сTnI^{146Gly} и тяжёлой цепи β -миозина β -MунС-Q403) [15]. Приведённые данные литературы подтверждают закономерный характер ремоделирования $Sx43^+$ -щелевых контактов в миокарде пациентов и экспериментальных животных с разными формами сердечно-сосудистой патологии. Эти изменения являются одним из стереотипных проявлений перестройки морфологии КМЦ и, очевидно, связаны с разной степенью дифференцировки КМЦ.

Ограничения исследования

Ограничением исследования является невозможность изучения ультраструктуры щелевых контактов в КМЦ интактного миокарда группы сравнения, обусловленная необходимостью быстрой фиксации материала для электронно-микроскопического исследования, которая невозможна в аутопсийном материале.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в КМЦ пациентов с ГКМП ремоделирование $Sx43^+$ -щелевых контактов более выражено по сравнению с контрольным миокардом. Для миокарда МЖП пациентов с ГКМП характерно латеральное расположение $Sx43^+$ -щелевых контактов в КМЦ, которое встречается чаще в гипертрофированных КМЦ с частичной

утратой миофибрилл и коррелирует с утолщением МЖП, уменьшением объёма полости ЛЖ, высоким градиентом давления на митральном клапане.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках государственного задания № 123030700104-3.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Т.В. Сухачева — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста; Р.А. Серов — концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста; Н.В. Низяева — концепция и дизайн исследования,

редактирование текста; А.А. Ахметшина — обработка материала; Л.А. Бокерия — концепция и дизайн исследования, сбор материала.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This work was conducted within the framework of state assignment No. 123030700104-3.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. T.V. Sukhacheva — concept and design of the study, collection and processing of material, statistical processing of data, writing of the text; R.A. Serov — concept and design of the study, writing and editing of the text; N.V. Nizyaeva — concept and design of the study, editing of the text; A.A. Akhmetshina — processing of material; L.A. Bockeria — concept and design of the study, collection of material.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boengler K., Rohrbach S., Weissmann N., Schulz R. Importance of Cx43 for right ventricular function // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, N 3. ID: 987. doi: 10.3390/ijms22030987
2. Zhang M., Wang Z.Z., Chen N.H. Connexin 43 phosphorylation: implications in multiple diseases // *Molecules*. 2023. Vol. 28, N 13. ID: 4914. doi: 10.3390/molecules28134914
3. Takeuchi S., Akita T., Takagishi Y., et al. Disorganization of gap junction distribution in dilated atria of patients with chronic atrial fibrillation // *Circulation Journal*. 2006. Vol. 70, N 5. P. 575–582. doi: 10.1253/circj.70.575
4. Szeiffova Bacova B., Anđelova K., Sykora M., et al. Distinct cardiac connexin-43 expression in hypertrophied and atrophied myocardium may impact the vulnerability of the heart to malignant arrhythmias. A pilot study // *Physiological Research*. 2023. Vol. 72, Suppl. 1. P. S37–S45. doi: 10.33549/physiolres.935025
5. Fry C.H., Gray R.P., Dhillon P.S., et al. Architectural correlates of myocardial conduction: changes to the topography of cellular coupling, intracellular conductance, and action potential propagation with hypertrophy in Guinea-pig ventricular myocardium // *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology*. 2014. Vol. 7, N 6. P. 1198–1204. doi: 10.1161/CIRCEP.114.001471
6. Sepp R., Severs N.J., Gourdie R.G. Altered patterns of cardiac intercellular junction distribution in hypertrophic cardiomyopathy // *Heart*. 1996. Vol. 76, N 5. P. 412–417. doi: 10.1136/hrt.76.5.412
7. Kostin S., Rieger M., Dammer S., et al. Gap junction remodeling and altered connexin43 expression in the failing human heart // *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2003. Vol. 242, N 1–2. P. 135–144.
8. Noorman M., Hakim S., Kessler E., et al. Remodeling of the cardiac sodium channel, connexin43, and plakoglobin at the intercalated disk in patients with arrhythmogenic cardiomyopathy // *Heart Rhythm*. 2013. Vol. 10, N 3. P. 412–419. doi: 10.1016/j.hrthm.2012.11.018
9. Hesketh G.G., Shah M.H., Halperin V.L., et al. Ultrastructure and regulation of lateralized connexin43 in the failing heart // *Circulation Research*. 2010. Vol. 106, N 6. P. 1153–1163. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.182147
10. Yan J., Killingsworth C., Walcott G., et al. Molecular remodeling of Cx43, but not structural remodeling, promotes arrhythmias in an arrhythmogenic canine model of nonischemic heart failure // *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2021. Vol. 158. P. 72–81. doi: 10.1016/j.yjmcc.2021.05.012
11. Бокерия Л.А., Борисов К.В., Синев А.Ф. Оригинальный способ хирургического лечения гипертрофической обструктивной кардиомиопатии // *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 1998. № 1. С. 4–10. EDN: RWWCWT
12. Дарий О.Ю., Александрова С.А., Маленков Д.А., и др. Магнитно-резонансная томография у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией, ассоциированной с жизнеугрожающими аритмиями // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН*. 2019. Т. 20, № 9–10. С. 771–782. doi: 10.24022/1810-0694-2019-20-9-10-771-782
13. Vetter C., Zweifel M., Zuppinger C., et al. Connexin 43 expression in human hypertrophied heart due to pressure and volume overload // *Physiological Research*. 2010. Vol. 59, N 1. P. 35–42. doi: 10.33549/physiolres.931654
14. Poelzing S., Rosenbaum D.S. Altered connexin43 expression produces arrhythmia substrate in heart failure // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2004. Vol. 287, N 4. P. H1762–1770. doi: 10.1152/ajpheart.00346.2004
15. Ripplinger C.M., Li W., Hadley J., et al. Enhanced transmural fiber rotation and connexin 43 heterogeneity are associated with an increased upper limit of vulnerability in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy // *Circulation Research*. 2007. Vol. 101, N 10. P. 1049–1057. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.161240

REFERENCES

- Boengler K, Rohrbach S, Weissmann N, Schulz R. Importance of Cx43 for right ventricular function. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(3):987. doi: 10.3390/ijms22030987
- Zhang M, Wang ZZ, Chen NH. Connexin 43 phosphorylation: implications in multiple diseases. *Molecules*. 2023;28(13):4914. doi: 10.3390/molecules28134914
- Takeuchi S, Akita T, Takagishi Y, et al. Disorganization of gap junction distribution in dilated atria of patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation Journal*. 2006;70(5):575–582. doi: 10.1253/circj.70.575
- Szeiffova Bacova B, Andelova K, Sykora M, et al. Distinct cardiac connexin-43 expression in hypertrophied and atrophied myocardium may impact the vulnerability of the heart to malignant arrhythmias. A pilot study. *Physiological Research*. 2023;72 Suppl. 1:S37–S45. doi: 10.33549/physiolres.935025
- Fry CH, Gray RP, Dhillon PS, et al. Architectural correlates of myocardial conduction: changes to the topography of cellular coupling, intracellular conductance, and action potential propagation with hypertrophy in Guinea-pig ventricular myocardium. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology*. 2014;7(6):1198–1204. doi: 10.1161/CIRCEP.114.001471
- Sepp R, Severs NJ, Gourdie RG. Altered patterns of cardiac intercellular junction distribution in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart*. 1996;76(5):412–417. doi: 10.1136/hrt.76.5.412
- Kostin S, Rieger M, Dammer S, et al. Gap junction remodeling and altered connexin43 expression in the failing human heart. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2003;242(1-2):135–144.
- Noorman M, Hakim S, Kessler E, et al. Remodeling of the cardiac sodium channel, connexin43, and plakoglobin at the intercalated disk in patients with arrhythmogenic cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2013;10(3):412–419. doi: 10.1016/j.hrthm.2012.11.018
- Hesketh GG, Shah MH, Halperin VL, et al. Ultrastructure and regulation of lateralized connexin43 in the failing heart. *Circulation Research*. 2010;106(6):1153–1163. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.182147
- Yan J, Killingsworth C, Walcott G, et al. Molecular remodeling of Cx43, but not structural remodeling, promotes arrhythmias in an arrhythmogenic canine model of nonischemic heart failure. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2021;158:72–81. doi: 10.1016/j.yjmcc.2021.05.012
- Bockeria LA, Borisov KV, Sinev AF. Original'nyj sposob hirurgicheskogo lecheniya gipertroficheskoy obstruktivnoj kardiomiopatii. *Grudnaya i Serdechno-Sosudistaya Khirurgiya*. 1998;(1):4–10. (In Russ.). EDN: RWWCWT
- Darij OYu, Aleksandrova SA, Malenkov DA, et al. Magnetic resonance imaging in patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with life-threatening arrhythmias. *The Bulletin of Bakoulev Center Cardiovascular Diseases*. 2019;20(9-10):771–782. doi: 10.24022/1810-0694-2019-20-9-10-771-782
- Vetter C, Zweifel M, Zuppinger C, et al. Connexin 43 expression in human hypertrophied heart due to pressure and volume overload. *Physiological Research*. 2010;59(1):35–42. doi: 10.33549/physiolres.931654
- Poelzing S, Rosenbaum DS. Altered connexin43 expression produces arrhythmia substrate in heart failure. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2004;287(4):H1762–1770. doi: 10.1152/ajpheart.00346.2004
- Ripplinger CM, Li W, Hadley J, et al. Enhanced transmural fiber rotation and connexin 43 heterogeneity are associated with an increased upper limit of vulnerability in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation Research*. 2007;101(10):1049–1057. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.161240

ОБ АВТОРАХ

* **Сухачева Татьяна Владимировна**, канд. биол. наук; адрес: Россия, 121552, Москва, Рублевское ш., д. 135; ORCID: 0000-0001-6127-8688; eLibrary SPIN: 9948-1550; e-mail: sukhachevat@gmail.com

Серов Роман Андреевич, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0002-7962-7273; eLibrary SPIN: 7946-0329; e-mail: raserov@bakulev.ru

Низяева Наталья Викторовна, д-р мед. наук; ORCID: 0000-0001-5592-5690; eLibrary SPIN: 9893-2630; e-mail: niziaeva@gmail.com

Ахметшина Алина Алексеевна; ORCID: 0009-0005-6366-6031; e-mail: malina.alina2001@gmail.ru

Бокерия Лео Антонович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН; ORCID: 0000-0002-6180-2619; eLibrary SPIN: 9608-1278; e-mail: leoan@bakulev.ru

AUTHORS' INFO

* **Tatiana V. Sukhacheva**, MD, Cand. Sci. (Biology); address: 135 Rublevskoe highway, 121552 Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-6127-8688; eLibrary SPIN: 9948-1550; e-mail: sukhachevat@gmail.com

Roman A. Serov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor; ORCID: 0000-0002-7962-7273; eLibrary SPIN: 7946-0329; e-mail: raserov@bakulev.ru

Natalya V. Nizyaeva, MD, Dr. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0001-5592-5690; eLibrary SPIN: 9893-2630; e-mail: niziaeva@gmail.com

Alina A. Akhmetshina; ORCID: 0009-0005-6366-6031; e-mail: malina.alina2001@gmail.ru

Leo A. Bockeria, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Academician of Russian Academy of Sciences ORCID: 0000-0002-6180-2619; eLibrary SPIN: 9608-1278; e-mail: leoan@bakulev.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author