

## Исследование ультраструктуры кардиомиоцита методом сканирующей зондовой нанотомографии

В.А. Балашов<sup>1</sup>, А.Е. Ефимов<sup>2</sup>, И.И. Аганов<sup>2</sup>, К.И. Агладзе<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

<sup>2</sup>Научно исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов

### Введение

В этой работе было исследовано взаимодействие между кардиомиоцитами, фибробластами и нановолоконными подложками. Понимание механизма взаимодействия между клетками сердца и их физическим окружением важно для определения их развития и пролиферации, а так же для выбора конфигурации субстрата, подходящего для создания тканеинженерных конструкций, применяемых для восстановления или улучшения функций повреждённой сердечной ткани. Для изучения этого феномена был применён метод сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ). Он позволяет получать информацию о трёхмерном строении объекта с нанометровым разрешением. Было показано присутствие интерфейса между клетками и волокном. Так же была продемонстрирована принципиальная возможность исследования кардиомиоцитов и фибробластов с помощью атомно-силовой микроскопии.

### Методы

Суспензия первичных неонатальных крысиных кардиомиоцитов и фибробластов высаживалась на блоки из полидиметилсилоксана (PDMS) с подвешенными выровненными волокнами из полилактида (PLA), полученными с помощью электроспиннинга. После трёх дней инкубации, культура фиксировалась в 2.5% глутаровом альдегиде и 1% тетраоксиде осмия, дегидратировалась в этиловом спирте и ацетоне и помещалась в эпоксидную смолу Epon 812. После полимеризации образцы были готовы для изучения методами ПЭМ и СЗНТ.

Сканирующая Зондовая Нанотомография<sup>[1]</sup> является одним из методов типа "Slice&View". В её основу положено совместное использование таких традиционных методов, как атомно-силовая микроскопия (АСМ) и ультрамикротомирование. Такое объединение позволяет снимать топографию поверхности блока, оставшуюся после выполнения среза, каждый раз после операции микротомирования. Микрорельеф появляется за счёт неоднородностей и внутренних напряжений в образце и является отражением внутренней структуры объекта. Накопление стека АСМ топографий позволяет воспроизводить трёхмерную структуру исследуемого объекта.

### Результаты

Сканирующая зондовая нанотомография позволила изучить интерфейс между кардиомиоцитами, фибробластами и нановолоконной подложкой. Так же с помощью этого метода была построена трёхмерная модель кардиомиоцита на волокне с нанометровым разрешением. Исследование показало, что в отличии от фибробластов, кардиомиоциты активно взаимодействуют с волокнами и выравниваются по ним.

Было показано, что с помощью метода СЗНТ возможно изучение ультраструктуры кардиомиоцитов и фибробластов. На АСМ топографиях видны такие структуры, как митохондрии, миофибриллы, цитоплазматическая мембрана, ядро. Полученные таким образом изображения сравнимы с получаемыми при помощи просвечивающей электронной микроскопии. Эти методы друг друга дополняют: ПЭМ позволяет верифицировать структуры, видимые на АСМ топографиях. СЗНТ позволяет реконструировать трёхмерную структуру объекта.

### Литература

[1] Efimov, Anton E., et al. "Atomic force microscope (AFM) combined with the ultramicrotome: a novel device for the serial section tomography and AFM/TEM complementary structural analysis of biological and polymer samples." *Journal of microscopy* 226.3 (2007): 207-216.