

moving on the right track. Working with bio-artificial organs will create a safe structure that will fulfill all the tasks.

1. V.P. Demikhov. Transplantation of vital organs in an experiment // M: Medgiz. (1960).
2. E. Aikawa, M. Nahrendorf, D. Sosnovik, V.M. Lok, F.A. Jaffer, M. Aikawa, R. Weisleder. *Circulation*, 115, 377–386 (2007).
3. N. Moniaux, J.A. Faivre. *Journal Hepatol*, 54, 386–387 (2011).
4. H. Wang, Ya. Yang, R. Zhang. *Tissue Eng Part B Rev.*, 16, 189–197 (2010).
5. H. Wang. *Artif Organs*, 36, 951–961 (2012).

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ПЛОТНОСТИ Т-ТУБУЛЯРНОЙ СЕТИ КАРДИОМИОЦИТОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЁННОМ МИОКАРДЕ

Якунина Е.А.¹, Мячина Т.А.^{1,2}, Бутова К.А.^{1,2}, Хохлова А.Д.^{1,2}

¹) Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

²) Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии
наук, г. Екатеринбург, Россия
E-mail: elizavetayakunina@yandex.ru

THE METHODOLOGY FOR EVALUATION OF T-TUBULAR DENSITY IN CARDIOMYOCYTES IN CARDIAC PATHOLOGY

Yakunina E.A.¹, Myachina T.A.^{1,2}, Butova K.A.^{1,2}, Khokhlova A.D.^{1,2}

¹) Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

²) Institute Immunology and Physiology, Russian Academy of Science,
Yekaterinburg, Russia

To analyze the excitation-contraction coupling in the myocardium, it is necessary to study T-tubular density in cardiomyocytes. The aim of this work was to develop a methodology for evaluating the density of the T-tubular network in atrial and ventricular cardiomyocytes in norm and pathology.

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются одной из ведущих причин смертности в мире, в связи с чем исследования структуры и функции сердца на всех уровнях организации представляют интерес для экспериментальных исследований. Для анализа связи возбуждение-сокращение в миокарде является необходимым исследование плотности распределения Т-тубул, которые представляют собой упорядоченные впячивания клеточной мембраны в кардиомиоцитах человека и млекопитающих. Функцией этой сети является участие в проведении ионов Ca²⁺ к саркоплазматическому ретикулуму [1].

Целью данной работы являлось разработка методики оценки плотности T-тубулярной сети в кардиомиоцитах предсердий и желудочков в норме и при патологии.

Эксперименты проводились на взрослых крысах линии Wistar в соответствии с положениями, изложенными в Директиве 2010/63/EU. В качестве патологической модели нами был выбран сахарный диабет. Исследования проводились на одиночных кардиомиоцитах, выделенных из изолированного сердца крыс, стандартным методом ретроградной перфузии с помощью ферментативного раствора [2].

Для анализа плотности распределения T-тубул в одиночных кардиомиоцитах (клетках сердца) использовалась методика флуоресцентного окрашивания. Для визуализации t-тубул в суспензию кардиомиоцитов добавлялся потенциал-чувствительный флуорофор di-8-ANEPPS (AAT Bioquest) в концентрации 20 мкМ. Для окрашивания клетки выдерживались в темноте при комнатной температуре в растворе di-8-ANEPPS в течение 20 минут. Далее часть надосадочной суспензии заменялось на раствор Тирода, чтобы обеспечить вымывание излишек красителя для снижения светимости фона, и клетки отстаивались ещё в течение 20 минут.

Результаты окрашивания регистрировались с помощью конфокального микроскопа Carl Zeiss (LSM-710) при возбуждении с помощью аргонового лазера с длиной волны 488 нм, регистрация флуоресценции осуществлялась в диапазоне 591 – 694 нм. Сканирование изображений проводилось в течение 1 минуты с использованием минимального пинхола.

Обработка полученных изображений осуществлялась в программе ImageJ [3] с помощью специализированных макросов.

В ходе работы было выявлено нарушение упорядоченности T-тубул в кардиомиоцитах крыс, больных сахарным диабетом, по сравнению с интактными животными, что может объяснить нарушение функции сердца при данном заболевании. При сравнении клеток из различных камер сердца наблюдалось снижение числа T-трубочек в предсердных клетках по сравнению с желудочковыми, что согласуется с литературными данными.

Работа поддержана РФФ № 18-74-10059.

1. Scardigli M., Crocini C., Ferrantini C., Gabbrielli T., Silvestri L., Coppini R., Tesi C., Rog-Zielinska E. A., Kohl P., Cerbai E., Poggesi C., Pavone F. S., Sacconi L. Proceedings of the National Academy of Sciences, 114(22), 5737–5742 (2017).
2. Myachina T. A., Butova X. A., Khohlova A. D. AIP Conference Proceedings, 2174, 020140 (2019).
3. Wagner E., Brandenburg S., Kohl T., Lehnart S. E. JoVE (Journal of Visualized Experiments), (92), e51823 (2014).