

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).