

## Dažādu audu paraugu sagatavošana un to virsmas struktūru novērtēšanas uzlabošana elektronmikroskopijas diagnostikai

*Hermanis Sorokins<sup>1,2</sup>, Jurijs Dehtjars<sup>1</sup>, Valērija Groma<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Rīgas Tehniskā universitāte, Transporta un mašīnbūves fakultāte,  
Bioinženierijas un nanotehnoloģiju institūts, Latvija

<sup>2</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Anatomijas un antropoloģijas institūts,  
Starpkatedru elektronmikroskopijas laboratorija, Latvija

**Ievads.** Caurstarojošā elektronu mikroskopija ir plaši pielietojama bioloģisko audu ultrastruktūras izpētes metode. Tajā izmanto elektronu kūli, kas iet cauri audu griezumam, zaudējot savu intensitāti, un tad veido attēlu. Ar šo metodi analizē šūnas struktūras, kuru izmēri tuvojas dažiem desmitiem nanometru. Pētījumos tiek izmantoti ultraplāni audu griezumī, kas pagatavoti ar ultramikrotoma palīdzību, un to biezums nepārsniedz 90 nanometrus. Pirms griešanas audi tiek ielieti cietā nesējvielā, kura pilnībā aizstāj ūdeni šūnās un starp tām. Kā nesējviela bieži tiek izmantoti daudzkomponentu epoksīdsveķi. To mehāniskās īpašības ir cieši saistītas ar komponentu proporcijām un termisko apstrādi. Mainot šo faktoru vērtības, var kontrolēt griezumu virsmas kvalitāti, t. i., virsmas raupjumu, virsmas elektrisko potenciālu un epoksīdsveķu iekļūšanu audos.

**Darba mērķis.** Mainot nesējvielas pagatavošanas parametrus, izstrādāt materiāla ieliešanas tehnoloģiju dažādu audu paraugu sagatavošanai un to virsmas struktūru novērtēšanas uzlabošanai elektronmikroskopijas diagnostikai.

**Materiāls un metodes.** Par nesējvielu tika izmantoti *Fluka Epoxy Embedding Medium Kit* epoksīdsveķi. Tie sastāv no bāzes vielas (glicerol-diglicedil-ēters), diviem anhidrīdiem (NMA un DDSA) un amīna katalizatora (DMP-30). Pētījumā tika izmantoti nervaudi un asins audi. Darba ietvaros tika pārbaudīta NMA : DDSA proporciju un termiskās apstrādes režīmu laika izmaiņu ietekme uz paraugu virsmas īpašībām (raupjums, potenciāls), kā arī uz epoksīdsveķu maisījuma iekļūšanu audos. Virsmas raupjums un potenciāls tika mērīti ar *NT-MDT Solver P47* atomspēka mikroskopa puskontakta un Kelvina zondes puskontakta skenēšanas metodēm. Epoksīdsveķu iekļūšana audos tika noteikta, izmantojot gaišā redzes lauka mikroskopu.

**Rezultāti.** Pētījuma ietvaros tika izvēlētas šādas NMA : DDSA proporcijas – 1,5 : 1, 1,14 : 1, 1 : 1,14, 1 : 1,5, 1 : 2. Termiskās apstrādes pirmā posma laika vērtības bija 12, 18 un 24 stundas. Viszemākais griezumu virsmas raupjums ielietajiem nervaudiem tika novērots, ja ieliešanas vidē NMA : DDSA proporcijas bija 1 : 1,14, un termiskās apstrādes pirmā posma laiks bija 24 stundas. Ielietajiem leukocītiem viszemākās raupjuma vērtības tika novērotas, ja NMA : DDSA proporcijas bija 1 : 1,5, un termiskās apstrādes pirmā posma laiks bija 24 stundas. Visos gadījumos ielietu asins audu griezumu virsmas raupjums bija zemāks nekā ielietiem nervaudiem. Palielinot NMA komponentes daļu, griezumu virsmas raupjums arī palielinājās. Anhidrīdu proporciju izmaiņas ietekme uz virsmas elektrisko potenciālu netika pierādīta. Epoksīdsveķu iekļūšana audos bija pilnīga visiem nesējvielu variantiem.

**Secinājumi.** Rezultāti ļauj secināt, ka griezumu virsmas raupjums ir atkarīgs no anhidrīdu proporcijām un termiskās apstrādes laika. Tas variē, salīdzinot dažādus audus, kas ielieti vienādās nesējvielās. Iegūtā informācija ļauj spriest par to, ka katram audu veidam ir nepieciešama citāda ieliešanas tehnoloģija. Pētījumu ietvaros tika izstrādāts ieliešanas protokols nervaudiem un asins audiem. Protokolu modificējot, to var pielietot citiem līdzīgiem materiāliem.