



УДК 57.086.2

# ИНТЕГРАЦИЯ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ 3D-РЕКОНСТРУКЦИИ ТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ОПТИКО-ЗОНДОВОЙ НАНОТОМОГРАФИИ

© 2025 г. Д. О. Соловьева\*, #, О. Я. Попадинец\*\*, И. С. Колпашников\*\*,  
А. В. Алтунина\*, \*\*\*, В. А. Олейников\*, \*\*

\* ФГБУН ГНЦ “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН,  
Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

\*\* ФГАОУ ВО “Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”,  
Россия, 115409, Москва, Каширское шоссе, 31

\*\*\* ФГАОУ ВО “Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)”,  
Россия, 141701 Долгопрудный, Институтский переулок, 9

Поступила в редакцию 03.12.2024 г.

После доработки 13.12.2024 г.

Принята к публикации 14.12.2024 г.

Задача 3D-реконструкции тканей на уровне клеток и их компонентов – неотъемлемая часть современных биомедицинских исследований. Разработка методов 3D-реконструкции на основе изображений атомно-силовой и оптической микроскопии позволит получить более детальное представление о морфологии и структуре биологических объектов на наноуровне. В настоящей работе мы интегрировали специальное программное обеспечение в методику оптико-зондовой нанотомографии (ОЗНТ) для оптимизации и унификации процесса объемной реконструкции и продемонстрировали возможности усовершенствованного метода на 3D-реконструкции фрагмента астроцита. Интеграция программы 3D Slicer в методику ОЗНТ обеспечивает надежную и высокоточную платформу для 3D-реконструкции сложных биологических объектов. Предложенная методика имеет прикладную значимость для решения частных задач, например, оценки синаптического окружения отдельных нейронов, а также для широкого круга исследований в областях биомедицины и материаловедения.

*Ключевые слова:* 3D-реконструкция, атомно-силовая микроскопия, оптико-зондовая нанотомография, 3D Slicer, астроцит, биомедицинские исследования

**DOI:** 10.31857/S0132342325040048, **EDN:** LMXONE

## ВВЕДЕНИЕ

Современная биология и медицина требуют детального понимания структуры и функций клеток, тканей и их компонентов на микро- и наномасштабных уровнях. Традиционные методы визуализации, такие как оптическая (ОМ) или электронная микроскопия (ЭМ), хотя

и обеспечивают получение важной информации, часто имеют ограничения в виде двумерных представлений образцов. Однако клетки и ткани – трехмерные структуры, и их функции напрямую зависят от пространственной организации. Разработка методов 3D-визуализации играет ключевую роль в решении ряда фундаментальных и

Сокращения: GFAP (glial fibrillary acidic protein) – глиальный фибриллярный кислый белок; MIP (maximum intensity projection) – максимальная интенсивность проекции; ROI (region of interest) – область интереса; АСМ – атомно-силовая микроскопия; ОЗНТ – оптико-зондовая нанотомография; ОМ – оптическая микроскопия; УМТ – ультрамикротом; УНУ – уникальная научная установка; ЭМ – электронная микроскопия.

# Автор для связи: (тел.: +7 (495) 330-59-74; эл. почта: d.solovieva@mail.ru).

прикладных задач в биологии, биомедицине и биоинженерии [1–3]. Такие методы обеспечивают возможность анализа сложных пространственных взаимодействий, выявления патологических изменений и разработки новых подходов к диагностике и терапии заболеваний.

Метод оптико-зондовой нанотомографии (ОЗНТ) позволяет получать множество данных от одного участка образца (топографические, оптические, спектральные и др.) и представлять их в виде объемной реконструкции [4]. Однако главной трудностью применения методики ОЗНТ для реконструкции биологических объектов остается отсутствие как таковой автоматизации процесса построения 3D-реконструкций исследуемых образцов. Данная проблема вытекает в том числе из сложности идентификации структурных элементов тканей на изображениях, полученных методами атомно-силовой микроскопии (АСМ). Цель данной работы заключалась в интеграции и адаптации дополнительного программного обеспечения для реализации методики ОЗНТ и построения 3D-реконструкций на основе данных АСМ и ОМ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее мы демонстрировали возможности перспективного применения методики ОЗНТ для исследования биологических структур, в частности опухолевых тканей, клеток, распределения наночастиц и лекарственных препаратов в клетках и тканях [5, 6].

Применение ОЗНТ для анализа образцов складывается из последовательно повторяющихся шагов получения данных от поверхности образца. Вкратце последовательность шагов выглядит следующим образом: выполняется срез образца алмазным ножом на ультрамикротоме (УМТ) для образования плоской поверхности образца и появления возможности проводить одновременные измерения методами АСМ и оптической микроскопии (ОМ); консоль УМТ с закрепленным образцом переводится в такое положение, в котором совпадают поля сканирования АСМ и ОМ и выполняются измерения; консоль УМТ отводится вниз, производится очередной срез образца; консоль с образцом возвращается в положение для измерений; проводится многократный повтор указанных шагов до получения достаточного массива 2D-АСМ-данных для составления 3D-реконструкции [4]. В качестве програм-

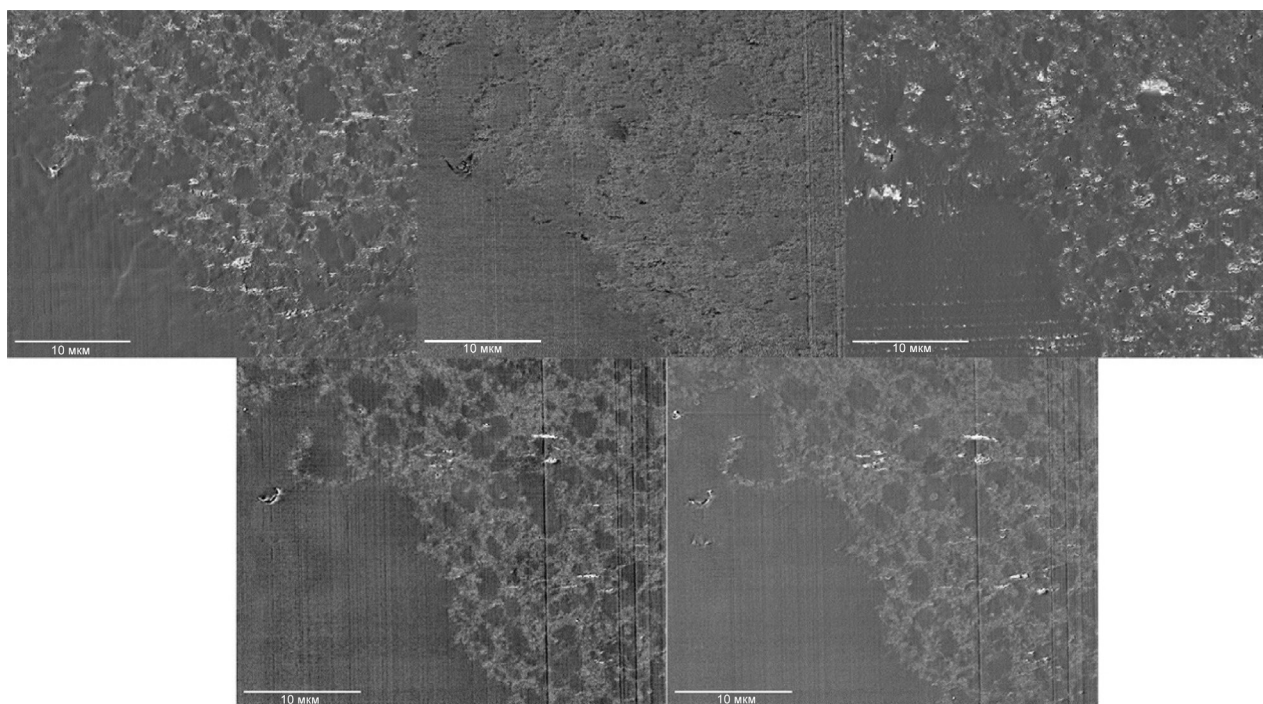
мных сред для объемной реконструкции данных ОЗНТ могут использоваться различные платформы, например, Image Pro Plus 3DConstructor (MediaCybernetics Inc., США) [5, 6], Amira 3D или Avizo 3D (Thermo Fisher Scientific Inc., США) [7]. Однако данные программные среды платные, а также имеют основную направленность для работы с флуоресцентными изображениями. Далее для реконструкции данных ОЗНТ мы предлагаем использовать программу 3D Slicer [8, 9], обладающую преимуществом открытой, свободно распространяемой программной платформы.

Применение методики ОЗНТ мы продемонстрировали на образцах гиппокампа мышей с целью 3D-реконструкции отростков астроцитов. Образцы были окрашены на астроцитарные белки цитоскелета (GFAP). Окрашивание производили для дальнейшего обнаружения астроцитов и их отростков посредством флуоресцентной микроскопии и локализации АСМ-зонда непосредственно на область, содержащую астроциты. Соответственно, далее была получена серия АСМ-изображений (рис. 1) от области флуоресценции, которая показывает наличие глиального фибриллярного кислого белка – характерного компонента цитоскелета астроцитов.

**Выравнивание слоев в серии изображений по реперной точке.** Для получения корректной 3D-модели необходимо выровнять все слои в серии для правильного наложения структур друг на друга в стеке.

В первую очередь данная серия изображений была обрезана таким способом, чтобы убрать рамку с размерной шкалой АСМ, и чтобы серия была одинакового пиксельного размера ( $m \times n$ ). Это необходимо, т.к. одинаковый размер слоев в серии – обязательное требование для загрузки файлов в приложение для построения 3D-модели в программе 3D Slicer [8, 9].

Затем на каждом слое была выбрана реперная (опорная) точка, которая должна совмещаться при наложении слоев. Для выбора реперной точки в серии изображений была выбрана область, которая присутствовала и была легко различима на каждом слое. В этой области определяли структуру и ее небольшой фрагмент, который практически не видоизменялся от слоя к слою, и на наиболее выразительной точке этого фрагмента ставили опорную точку на каждом изображении из серии.



**Рис. 1.** Серия последовательных изображений АСМ, полученных с поверхности образца гиппокампа мыши после среза, толщина каждого среза – 100 нм.

В данном случае использовали одну реперную точку для каждого слоя, т.к. зонд смещался по координатам  $x$  и  $y$ , не поворачивая плоскость сканирования. Поэтому считается, что одной точки достаточно для выравнивания.

Для просмотра изображений, выбора точек и отслеживания их координат использовали программу ImageJ [10]. После определения реперных точек фиксировали их пиксельные координаты  $(x, y)$  для дальнейшей обработки слоев.

Приложение имеет начало координат в верхнем левом углу. Соответственно, отсчет координаты  $x$  идет слева направо, а  $y$  – сверху вниз.

Сначала рассчитывали размах для каждой координаты – количество пикселей между наибольшим и наименьшим значениями соответствующих координат  $(x_{\max} - x_{\min}, y_{\max} - y_{\min})$ . Размах будет учитываться при обрезании слоев, т.к. на выходе должны получиться изображения одинакового размера, равного  $(m - x_{\text{размах}})(n - y_{\text{размах}})$ .

Выравнивание по  $x$ -координате заключается в том, что для каждого слоя из  $x$  координаты реперной точки данного слоя вычитается наименьшее значение  $x$  координаты, и полученное количество пикселей  $(x - x_{\min})$  удаляется со стороны начала отсчета координат (слева), а  $(\text{размах} - (x - x_{\min}))$

справа. Последний шаг нужен для сохранения одинакового размера слоев.

Аналогичные действия выполняли для  $y$ -координаты каждого слоя.

Данный способ позволяет получить наибольшие по размерам выравненные слои, в которых реперная точка будет иметь одинаковую координату, а слои сохранят одинаковый размер.

**Адаптация свободного программного обеспечения 3D Slicer для методики ОЗНТ.** Подготовленные таким образом изображения затем загружали и обрабатывали в программе 3D Slicer. 3D Slicer – это открытая, свободно распространяемая программная платформа для анализа, визуализации и обработки медицинских изображений, а также для выполнения задач 3D-реконструкции. Программа поддерживает широкий спектр форматов медицинских данных (например, DICOM) и предоставляет инструменты для сегментации, регистрации, объемного рендеринга и анализа данных. 3D Slicer активно используется в биомедицинских исследованиях и клинической практике благодаря модульной архитектуре, которая позволяет расширять функциональность программы с помощью пользовательских модулей и скриптов на Python. Программа поддерживает



интеграцию с такими технологиями, как машинное обучение, обработка больших данных и 3D-печать, что делает ее универсальным инструментом для задач в области медицинской визуализации и биоинженерии. Благодаря этим возможностям и расширениям программы мы адаптировали применение 3D Slicer для ОЗНТ.

Последовательность шагов для использования 3D Slicer с изображениями ACM/ОМ, полученных ОЗНТ:

1. Конвертация данных ACM в совместимый формат. Для работы с 3D Slicer необходимо преобразовать данные ACM в стандартные форматы, такие как TIFF (для 2D-изображений), NIfTI (.nii) или MetaImage (.mhd/.raw) (для объемных данных), STL/OBJ (для 3D-поверхностей).

2. Импорт данных в 3D Slicer.

2.1. После конвертации и выравнивания данных, как описано выше, производится загрузка в 3D Slicer;

2.2. Для 2D- или 3D-изображений используется модуль “Add Data”:

2.2.1. При наличии данных высотной карты (height map) они могут быть интерпретированы как объемные данные (воксели) или как поверхность.

3. Фильтрация и нормализация:

3.1. Удаление шумов с использованием фильтров (например, гауссового или медианного фильтра);

3.2. Нормализация интенсивностей пикселей для улучшения контрастности;

3.3. Калибровка разрешения:

3.3.1. Проверка пространственного разрешения данных (величина вокселей) и приведение к единым масштабам, если это необходимо.

4. Визуализация данных:

4.1. Используется модуль Volume Rendering для объемной визуализации высотных карт или данных изображения;

4.2. При работе с поверхностями (например, экспортировали данные ACM как STL) используется модуль Models для их отображения.

5. Анализ данных:

5.1. Сегментация: процесс выделения интересующих областей (ROI, Region of Interest) из объемных данных. Она может быть выполнена вручную, полуавтоматически или автоматически. Для сегментации используется модуль Segment Editor для

выделения интересующих областей на изображении.

5.2. Инструменты сегментации в 3D Slicer:

5.2.1. Ручная сегментация с использованием кистей и инструментов выделения;

5.2.2. Полуавтоматическая сегментация с использованием алгоритмов пороговой обработки (Thresholding), роста региона (Region Growing) или алгоритмов машинного обучения;

5.2.3. Автоматическая сегментация на основе готовых моделей или специализированных модулей;

5.2.4. Измерения: с помощью инструментов измерения можно анализировать топографические особенности, такие как глубина, высота, площадь и объем структур;

5.2.5. Регистрация: если имеется несколько наборов данных (например, до и после эксперимента), можно выровнять их с помощью модуля регистрации.

6. Создание пользовательских модулей:

6.1. Если требуется специфический анализ данных ACM, возможно создать собственный модуль на Python, используя API 3D Slicer. Это позволит автоматизировать обработку данных или добавить уникальные алгоритмы анализа.

7. Экспорт данных:

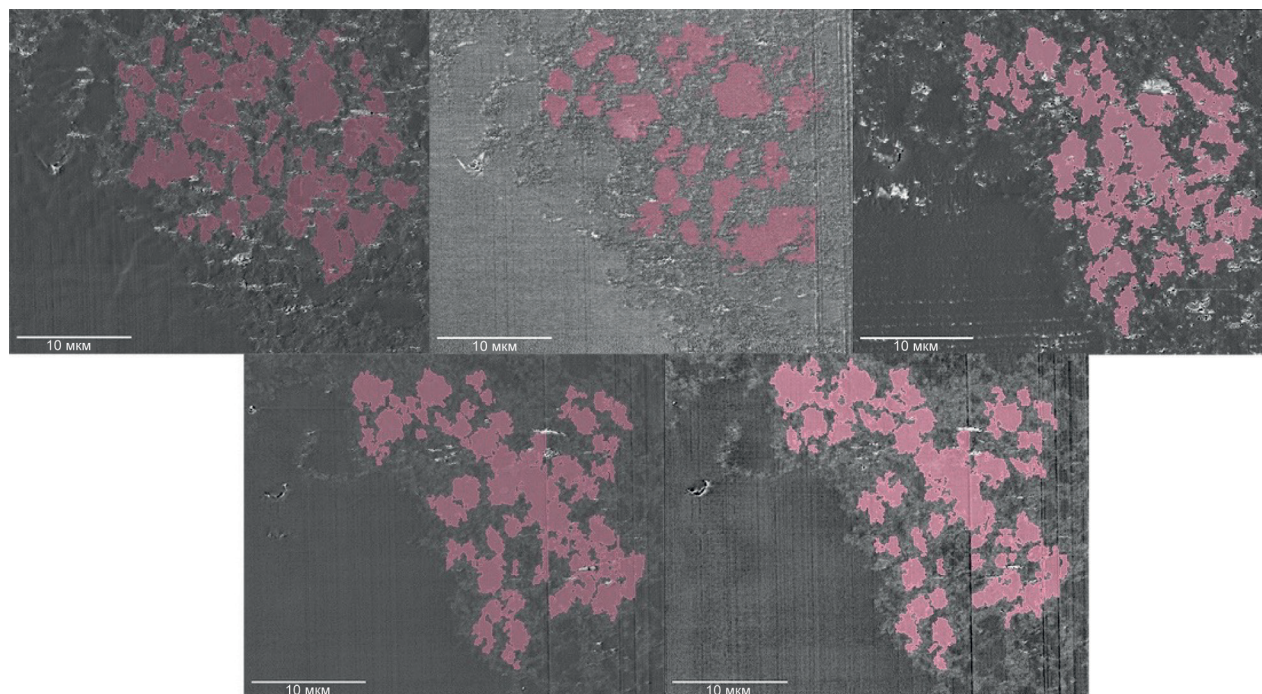
7.1. После обработки данные экспортируются в нужном формате:

7.1.1. Обработанные изображения – в форматы NIfTI, TIFF и др.;

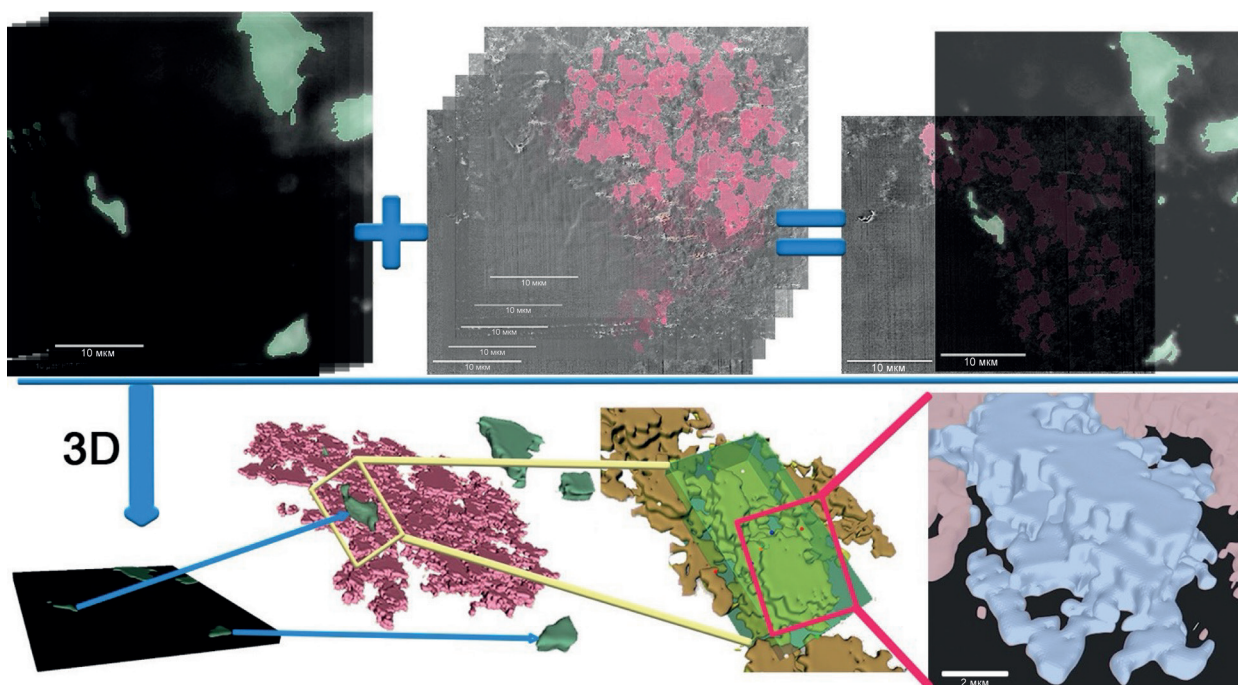
7.1.2. Поверхности – в STL или OBJ для последующего анализа или 3D-печати.

**Построение 3D-реконструкции.** С помощью модуля Segment Editor в режиме полуавтоматической сегментации на серии изображений ACM мы выделили интересующие структурные элементы (рис. 2) в своих границах, создав таким образом рабочую маску.

Далее в пределах определенных координат выравнивания по реперной точке были сопоставлены флуоресцентные области с изображениями ACM (рис. 3) – таким образом точно определяли область, содержащую фрагмент астроцита. Данные последовательных изображений после сегментации преобразуются в 3D-представление. В 3D Slicer используются два основных подхода к построению объемного изображения:



**Рис. 2.** Серия последовательных изображений АСМ после сегментирования и создания маски.



**Рис. 3.** Схематичное представление 3D-реконструкции фрагмента гиппокампа посредством ОЗНТ с применением 3D Slicer. Верхняя панель (слева направо): получение последовательной серии флуоресцентных изображений при толщине среза 100 нм и их сегментация; получение последовательных изображений АСМ от участка с флуоресценцией GFAP и их сегментация; выравнивание, определение координат и солокализация двух типов изображений. Нижняя панель (слева направо): построение 3D флуоресцентного изображения; построение 3D-изображения АСМ и солокализация с флуоресцентной сегментацией; выбор участка в области флуоресценции GFAP; локализация участка астроцитарного фрагмента с возможностью масштабных измерений.



## 1. Объемная визуализация (Volume Rendering):

1.1. Алгоритмы объемной визуализации позволяют создать 3D-изображение путем отображения вокселей с учетом их интенсивности;

1.2. Для этого используются методы трассировки лучей (Ray Casting), максимальной интенсивности проекции (MIP, Maximum Intensity Projection) или переноса функций прозрачности и цвета. В процессе можно настроить параметры визуализации, такие как цветовые карты, прозрачность и интенсивность отображаемых структур.

## 2. Поверхностная реконструкция (Surface Rendering):

2.1. На основе сегментированных данных создается полигональная модель поверхности интересующей области;

2.2. Для этого применяется алгоритм Marching Cubes, который преобразует воксельные данные в набор треугольников, представляющих поверхность объекта.

После выполнения реконструкции возможно взаимодействовать с объемным изображением: вращение модели в 3D-пространстве, изменение угла обзора, масштаба и уровня детализации, применение различных предустановок визуализации для выделения структур с разными уровнями плотности.

Применив соответствующие алгоритмы, мы ограничили участок 3D-модели, выделенный в области флуоресценции GFAP. Последовательность проведенных измерений и этапов реконструкции представлена на рис. 3.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Выделение гиппокампа и подготовка образцов.** Использовали гиппокамп самца мыши линии C57Bl/6 в возрасте 8 недель (одно животное, вес 54 г, филиал “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Подготовку гиппокампа проводили по стандартной процедуре. Животное анестезировали изофлураном, затем декапитировали, извлекали гиппокамп и помещали в агаровом блоке в чашу вибратора HM650 V (Thermo Fisher Scientific, Waltham, США), заполненную раствором, содержащим (в mM): сахарозу – 50; NaCl – 87; KCl – 2,5; MgSO<sub>4</sub> – 8,48; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,24; NaHCO<sub>3</sub> – 26,2; CaCl<sub>2</sub> – 0,5; D-глюкозу – 11, при 4°C и насыщенным карбогеном (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>, pH 7,4, осмоляльность 295 мОсм). С помощью

вибратора получали переживающие срезы толщиной 300 мкм в оксигенированном (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) растворе aCSF. После изготовления срезы в течение 1 ч инкубировали при 34°C в растворе Рингера. Поскольку при нарезке клеточные структуры подвергаются стрессу, после нарезки срезы инкубировали в растворе aCSF не менее 1 ч при 22°C. После периода восстановления срезы помещали в 4%-ный раствор параформальдегида при 36°C на 60 мин, затем дважды промывали в фосфатном буферном растворе (pH 7,4). Отмывку проводили с помощью шейкера в течение 15 мин и повторяли 3 раза. Далее образцы готовили для исследований методом ОЗНТ, реализуемой на уникальной научной установке “Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии”, <https://ckp-rf.ru/usu/486825/> (далее – УНУ). Подготовку проводили путем инфильтрации ткани акрилатной заливочной средой по следующей методике. Срезы гиппокампа после отмывки в фосфатном буферном растворе помещали в индивидуальные эппендорфы (1,5 или 2 мл) и последовательно выдерживали в водных растворах этанола: 30–50–70% – по 10 мин, 90% – 30 мин. Затем срезы последовательно выдерживали в смесях заливочной среды (Lowicryl HM20, Polysciences, Inc., США) с этиловым спиртом в объемном соотношении 1 : 1 (60 мин), 2 : 1 (2 ч). Далее проводили инкубацию в небольшом объеме заливочной среды Lowicryl HM20 в вакуумном эксикаторе в течение 30 мин с целью удаления оставшейся воды из раствора, после чего объем заливочной среды доводили до 1,5 мл, плотно закрывали во избежание попадания избытка воздуха и инкубировали под УФ-лампой (366 нм) в течение 48 ч. После полимеризации твердые блоки с фрагментом гиппокампа извлекали из эппендорфов. Такие блоки готовы к дальнейшему исследованию.

**Окрашивание срезов гиппокампа.** Часть срезов перед процедурой инфильтрации заливочной средой были окрашены на астроцитарные белки цитоскелета (GFAP) (рис. 3). Процедуру окрашивания проводили по стандартной методике иммуноцитохимического окрашивания. Для окрашивания использовали первичные кроличьи моноклональные антитела против глиального фибриллярного кислого белка GFAP (ABIN3043832) и вторичные антикроличьи поликлональные антитела Alexa Fluor® 488

AffiniPure Donkey Anti-Rabbit IgG (H + L) (Jackson ImmunoResearch, США, АВ\_2313584). Для осуществления иммуноцитохимического окрашивания срезы гиппокампа фиксировали 4%-ным раствором параформальдегида в течение 60 мин при 37°C, затем дважды промывали фосфатным буферным раствором (PBS, pH 7.4). Затем срезы инкубировали в блок-растворе (PBS с 0.3% Triton-X100, 0.1% Tween 20 и 5%-ный раствор BSA) при комнатной температуре в течение 90 мин для пермеабилзации. После этого срезы инкубировали в растворе первичных антител в PBS с 0.01% Tween 20 (60 ч) при 25°C, трижды промывали PBS (по 10 мин) и инкубировали со вторичными антителами 2 ч при 25°C в темноте. Далее окрашенные срезы подвергали инфильтрации Lowicryl HM20 по методике, описанной выше.

**АСМ- и ОМ-измерения.** Сканирование АСМ и ОМ проводили на УНУ «Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии» (<https://ckp-rg.ru/usu/486825/>). Использовали АСМ-зонды серии NSG 10 (Tipsnano, Россия), характеристики зондов: длина балки –  $125 \pm 10$  мкм, ширина балки –  $27 \pm 7.5$  мкм, толщина балки –  $2.75 \pm 1$  мкм, резонансная частота 240 кГц, силовая константа – 11.8 Н/м, отражающее покрытие балки – Au, размер чипа –  $3.4 \times 1.6 \times 0.3$  мм, высота наконечника – 14–16 мкм, радиус кривизны наконечника – 10 нм. Скорость сканирования 0.4–0.6 Гц, область сканирования  $36.8 \times 40$  мкм, латеральное разрешение минимум  $1024 \times 1024$  пикселей. Толщина среза – 100 нм. Количество срезов – 5.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе предложена и реализована интеграция модуля сегментации и 3D-реконструкции на базе платформы 3D Slicer в методику ОЗНТ. Разработанный подход позволяет не только расширить технические возможности ОЗНТ за счет гибкой настройки пользовательских модулей и скриптов на Python, но и открывает перспективы дальнейшего улучшения метода с помощью алгоритмов машинного обучения. На примере ткани гиппокампа мыши продемонстрирована полноценная 3D-реконструкция, локальное выделение фрагмента астроцита и количественный анализ объема структуры, длины и толщины отростков, а также визуализация их взаимодействия с окружающими элементами

ткани. Полученные результаты свидетельствуют о том, что интеграция 3D Slicer в методику ОЗНТ обеспечивает надежную и высокоточную платформу для 3D-реконструкции сложных биологических объектов. Предложенная методика имеет прикладную значимость как для решения частных задач (например, оценки синаптического окружения отдельных нейронов), так и для широкого круга исследований в областях биомедицины и материаловедения.

## ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10071 (<https://rscf.ru/project/23-24-10071/>).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условиях ухода за ними были соблюдены.

Исследования были одобрены Комитетом Института по уходу и использованию лабораторных животных (протокол № 337/2021).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Концептуализация – ДОС, ВАО; экспериментальные работы – ОЯП, ИСК; написание статьи – ДОС, ОЯП; анализ данных – ДОС; администрирование проекта – ВАО.

Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

## ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jacquemet G., Carisey A.F., Hamidi H., Henriques R., Leterrier C. // J. Cell Sci. 2020. V. 133. P. jcs240713. <https://doi.org/10.1242/jcs.240713>
2. Mochalov K.E., Korzhov D.S., Altunina A.V., Agapova O.I., Oleinikov V.A. // Act. Nat. 2024. V. 16. P. 14–29. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27323>

3. Solovyeva D.O., Altunina A.V., Tretyak M.V., Mochalov K.E., Oleinikov V.A. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2024. V. 50. P. 1215–1236.  
<https://doi.org/10.1134/S1068162024040356>
4. Mochalov K.E., Chistyakov A.A., Solovyeva D.O., Mezin A.V., Oleinikov V.A., Vaskan I.S., Molinari M., Agapov I.I., Nabiev I., Efimov F.E. // *Ultramicroscopy*. 2017. V. 182. P. 118–123.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2017.06.022>
5. Агапова О.И., Ефимов А.Е., Мочалов К.Е., Соловьева Д.О., Гилева А.М., Марквичева Е.А., Яковлев Д.В., Люндуп А.В., Олейников В.А., Агапов И.И., Готье С.В. // *Доклады РАН. Науки о жизни*. 2023. Т. 509. С. 119–123.  
<https://doi.org/10.31857/S2686738923700178>
6. Агапова О.И., Ефимов А.Е., Мочалов К.Е., Соловьева Д.О., Свирищевская Е.В., Климентов С.М., Попов А.А., Олейников В.А., Агапов И.И., Готье С.В. // *Доклады РАН. Науки о жизни*. 2022. Т. 504. С. 219–222.  
<https://doi.org/10.31857/S2686738922030027>
7. Balashov V., Efimov A., Agapova O., Pogorelov A., Agapov I., Agladze K. // *Acta Biomaterialia*. 2018. V. 68. P. 214–222.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.12.031>
8. Fedorov A., Beichel R., Kalpathy-Cramer J., Finet J., Fillion-Robin J.-C., Pujol S., Bauer C., Jennings D., Fennessy F.M., Sonka M., Buatti J., Aylward S.R., Miller J.V., Pieper S., Kikinis R. // *Magnetic Resonance Imaging*. 2012. V. 30. P. 1323–1341.  
<https://doi.org/10.1016/j.mri.2012.05.001>
9. 3D Slicer image computing platform.  
<https://www.slicer.org/>
10. ImageJ. Image Processing and Analysis in Java.  
<https://imagej.net/ij/index.html>

## Integration of Software for 3D Tissue Reconstruction Based on Optical Probe Nanotomography Data

D. O. Solovyeva<sup>\*,#</sup>, O. Y. Popadinets<sup>\*\*</sup>, I. S. Kolpashnikov<sup>\*\*</sup>,  
A. V. Altunina<sup>\*,\*\*\*</sup>, and V. A. Oleinikov<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>#</sup> Phone: +7(495)330-59-74; e-mail: d.solovieva@mail.ru

<sup>\*</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

<sup>\*\*</sup> National Research Nuclear University MEPhI, Kashirskoe shosse 31, Moscow, 115409 Russia

<sup>\*\*\*</sup> Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University),  
Institutskii per. 9, Dolgoprudny, 141701 Russia

The task of three-dimensional (3D) reconstruction of tissues at the cellular and subcellular level is an integral part of modern biomedical research. Developing 3D reconstruction methods based on atomic force and optical microscopy images enables a more detailed understanding of the morphology and structure of biological specimens at the nanoscale. In the present study, we integrated dedicated software into the workflow of optically probed nanotomography (OPNT) to optimize and standardize the volumetric reconstruction process and demonstrated the capabilities of the enhanced method by reconstructing a fragment of an astrocyte in 3D. The incorporation of 3D Slicer into the OPNT protocol provides a reliable, high-precision platform for the three-dimensional reconstruction of complex biological structures. The proposed approach has practical utility for specialized tasks – such as evaluating the synaptic environment of individual neurons – as well as for a wide range of investigations in biomedical research and materials science.

**Keywords:** 3D reconstruction, atomic force microscopy, optical probe nanotomography, 3D Slicer, astrocyte, biomedical research