

УДК 535.372+616-089.819

ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ОПТИЧЕСКИХ ФАНТОМОВ БИОТКАНЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФАД И ПРОТОПОРФИРИН IX

Микенькина М.А. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия),

Тагунов П.А. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия)

Шуплецов В.В. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия)

Научный руководитель – к.т.н. Дрёмин В.В.

(Лаборатория клеточной физиологии и патологии,
Научно-технологический центр биомедицинской фотоники,
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия)

Аннотация Работа посвящена разработке технологии изготовления оптических фантомов биотканей для воспроизведения их флуоресцентных свойств.

Введение. Существующие на сегодняшний день методы оптической медицинской диагностики (в частности методы флуоресцентного анализа), набирающие стремительные темпы развития, остро нуждаются в разработке контрольных и калибровочных тест-объектов (или так называемых оптических фантомов) биотканей с известными и количественно подтверждёнными опто-механическими свойствами. Так, использование оптических фантомов позволяет с высокой точностью калибровать оптические системы измерений с целью стандартизации получаемых результатов. Однако при их изготовлении для систем флуоресцентного анализа важен правильный подбор материалов, эквивалентных по своим свойствам реальным биологическим тканям. Соответственно, в настоящем исследовании предлагается идея твердой матричной основы фантома с использованием полиакриламида (ПАА) в качестве связующего материала со стабильными термическими и химическими характеристиками и желатина для воспроизведения флуоресцентных свойств коллагена. В качестве флуоресцирующих агентов используются флавинадениндинуклеотид (ФАД), и протопорфирин IX, содержащиеся в биотканях человека.

Основная часть. Для изготовления матричной основы использовался порошковый желатин (0,2 г) перемешанный с 20 мл дистиллированной воды до получения однородной структуры при нагреве в 40 °С. Последующая гомогенизация полученного раствора производилась путем добавления 6 г акриламида (АА) и 0,16 г бисакриламида (БАА), в результате чего получалась структура, в которой полиакриламидные цепи соединены поперечной сшивкой молекулами бисакриламида. Для симуляции рассеивающих свойств биотканей в изготовленный гель было добавлено 0,03 г наночастиц ZnO (ZnO), обладающих активно выраженными рассеивающими свойствами.

Для воспроизведения флуоресцентных свойств к полученной композитной основе добавляли ФАД в концентрации 5 мкМ на 100 г материала. Выбор значений объясняется концентрацией ФАД в норме в организме человека, которая варьируется в пределах от нескольких единиц до нескольких десятков мкМ на 100 г ткани.

Для воспроизведения флуоресцентных свойств протопорфирина, была разработана технология его выделения из измельченной темной яичной скорлупы (10 г), которую смешивали с 1 М HCl. Таким образом, реагирующую смесь выдерживали до прекращения выделения углекислого газа, после чего пропускали через бумажный фильтр. После добавления этилацетата полученную эмульсию подвергали центрифугированию и выпариванию на водяной бане до полного удаления растворителя. Полученный осадок протопорфирина IX в концентрации 150 мкмоль/л растворяли в диметилсульфоксиде и добавляли в изготовленную композитную основу.

Таким образом было изготовлено два типа оптических фантомов, состоящих из композитной основы с добавлением ФАД и протопорфирина IX соответственно.

Диффузное отражение, диффузное и коллимированное пропускание изготовленных МО были измерены с помощью спектрофотометра с интегрирующей сферой (Shimadzu, Япония). С помощью инверсного метода «добавления-удвоения» были рассчитаны коэффициент поглощения (μ_a) и приведенный коэффициент рассеяния (μ'_s) в диапазоне 400-1000 нм.

В спектрах поглощения отчетливо видны полосы поглощения воды (760 и 975 нм), а также полосы поглощения ФАД (450 нм) и протопорфирина IX (640 нм) значения которых близки к реальным значениям в тканях человека.

Выводы. Представленные в настоящем исследовании полимерные оптические фантомы с подтвержденными рассеивающими и флуоресцентными свойствами позволяют воспроизводить спектры флуоресценции биотканей в указанном диапазоне длин волн с достаточно высокой точностью. Основным преимуществом изготовленных оптических фантомов является то, что условия полимеризации не влияют на свойства флуоресценции добавляемых флуорофоров в конечных тест-объектах. Получаемая эластичная матрица фантома удовлетворяет условию стационарности, что является необходимым требованием для калибровочных измерений. Применение разработанной технологии изготовления фантомов позволит тестировать, стандартизировать и калибровать системы флуоресцентных исследований. В качестве дальнейшей работы рассматривается воспроизведение опухолевых трансформаций в тканях, путем варьирования концентраций, представленных флуорофоров ФАД и протопорфирина IX.

Микенькина М.А.

Подпись

Тагунов П.А.

Подпись

Шуплецов В.В.

Подпись

Дрёмин В.В.

Подпись