

20 Деформационный отклик биологических фантомов и хрящевой ткани при лазерном воздействии

© Е.М. Касьяненко, А.И. Омельченко, О.И. Баум

Институт фотонных технологий ФНИЦ „Кристаллография и фотоника“ РАН,
Москва, Россия

e-mail: ekkassianenko@gmail.com

Поступила в редакцию 21.12.2021 г.

В окончательной редакции 18.01.2022 г.

Принята к публикации 22.03.2022 г.

Регенерация хрящевой ткани и изменение ее формы под воздействием лазерного излучения могут быть положены в основу перспективных медицинских операций, улучшающих качество жизни пациента. Важнейшим критерием успешности таких операций является выживаемость клеток после лазерного воздействия, поэтому уменьшение продолжительности и мощности воздействия является важной задачей при разработке таких методов. Наночастицы активно используются в медицине, и одна из целей их использования — усиление фототермического эффекта при лазерном воздействии на биоткани. Однако суставная ткань достаточно устойчива к проникновению в нее инородных агентов, поэтому изучение проникающей способности наночастиц и эффекта от их пропитки является первостепенной задачей для достижения желаемого медицинского эффекта. В данной работе проведена оптическая когерентная томография (ОКТ) гелевых фантомов и хрящевой ткани сустава, пропитанных наночастицами, при лазерном воздействии эрбиевым волоконным лазером с длиной волны $1.56 \mu\text{m}$. Срезы суставной хрящевой ткани трех типов (интактные, с лазерными повреждениями и после слабого лазерного воздействия) пропитывали наночастицами Fe_3O_4 для дальнейшего исследования на ОКТ-эластографии. Обнаружено увеличение деформаций, вызванных нагревом фантомов и тканей, пропитанных наночастицами. Данные ОКТ-эластографии указывают на зависимость деформации тканей от предварительной истории воздействия на ткань. В работе доказано увеличение фототермического воздействия лазерного излучения на деформацию тканей при введении различных наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы, ОКТ-эластография, лазерная модификация биоткани, биофотоника.

DOI: 10.21883/OS.2022.06.52625.22-22

Введение

Неразрушающая лазерно индуцированная модификация биологической ткани - это активно развивающееся междисциплинарное направление, задачей которого является возвращение ткани изначальных свойств или придание новых. Отдельным направлением в ней идет воздействие на аваскулярные ткани, такие как хрящевая ткань.

Хрящевая ткань распространена в человеческом теле повсеместно и необходима для обеспечения подвижности и опоры его тела. Поэтому любая ее патология негативно сказывается на качестве жизни человека. Так, суставная ткань испытывает значительные нагрузки и может быть травмирована или стерта. По заключению организации „Bone and Joint Initiative“ в США более половины всех хронических заболеваний у людей пожилого возраста составляют заболевания суставов [1]. Помимо этого, хрящевая ткань также может иметь искривленную форму вследствие врожденной патологии или травмы, что влечет за собой как эстетические, так и физиологические проблемы [2].

Установлено, что импульсно-периодическое, неабляционное лазерное воздействие на гиалиновый хрящ

приводит к образованию пор субмикронного размера, что способствует питанию ткани и ее регенерации [3]. А воздействие с определенной частотой повторения импульсов и интенсивностью излучения на зоны с внутренним напряжением способно стабилизировать новую форму хрящевой ткани и имплантата [4,5]. Однако данные воздействия для успешного применения в медицине требуют минимизации травмирующего влияния на клетки и структуры хрящевой ткани, которое может в дальнейшем привести к ее лизису.

Введение в ткань наночастиц, обладающих фототермическим эффектом, позволит использовать щадящие режимы облучения и локализовать область лазерного воздействия при медицинских операциях, указанных выше. Более того, подобные наночастицы могут служить маркером повреждения хрящевой ткани, так как ранее было доказано, что здоровая хрящевая ткань устойчива к проникновению в нее каких-либо частиц [6], а наночастицы оседают именно в местах различных повреждений или травм [7,8].

Ранее проводились исследования на хрящевой ткани с наночастицами магнетита Fe_3O_4 и было установлено [9], что пропитка хрящевой гиалиновой ткани растворами наночастиц в концентрации 10 mg/ml

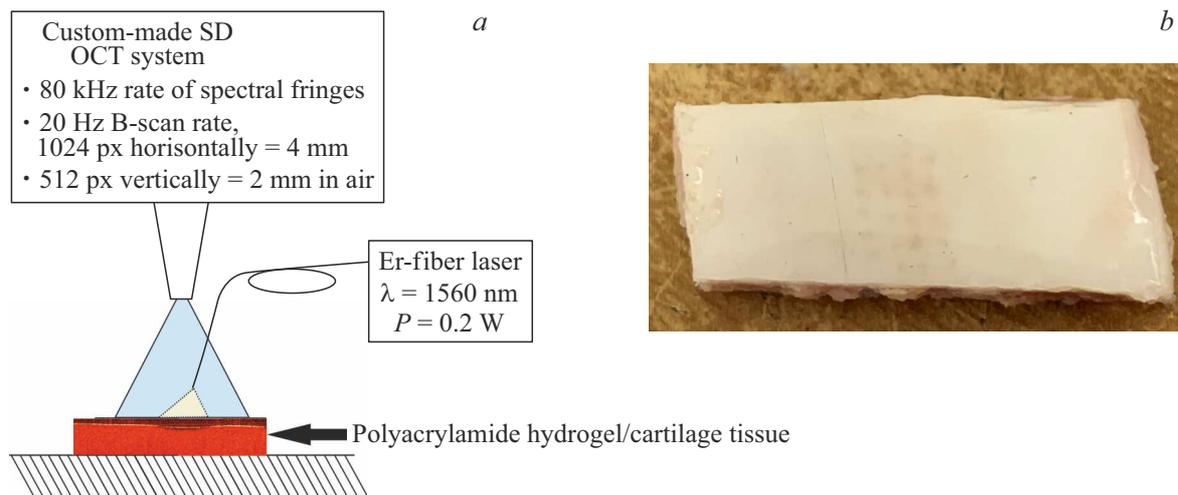


Рис. 1. (а) Схема экспериментальной установки, (б) образец хрящевой ткани с предварительной обработкой.

увеличивает скорость нагрева при импульсно-периодическом лазерном воздействии эрбиевым волоконным лазером. А исследования на наночастицах металлооксидных бронз (Na_xTiO_2 , K_xMoO_3 , K_xWO_3 , H_xMoO_3 , где $0.1 < x < 0.3$) обнаружили, что импрегнация ткани наночастицами $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$ увеличивает температуру нагрева на 15%, а наночастицами $\text{K}_{0.1}\text{MoO}_3$ — на 30%, остальные наночастицы не вносят дополнительного фототермического эффекта [10]. Дальнейшие работы было решено проводить с использованием наночастиц магнетита Fe_3O_4 и металлооксидных бронз $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$, так как после размола они обладают магнитными свойствами, за счет чего можно увеличить их проникающую способность путем приложения направленного магнитного поля [11,12].

Однако контроль термометрическим способом не является гарантией отсутствия перегрева или повреждения биоткани ввиду того, что, во-первых, хрящ имеет неоднородности структуры, обладающие различной степенью нагрева. Во-вторых, максимальная температура при лазерном нагреве эрбиевым волоконным лазером часто наблюдается не на поверхности ткани из-за процессов перераспределения воды в приповерхностном слое, что влечет за собой ошибку при контроле температуры на поверхности биоткани. Качественно оценить повреждения ткани и вносимые лазерным воздействием изменения можно, например, через оценку деформации ткани. Поэтому целью нашего исследования была оценка фототермического эффекта в хрящевых тканях, пропитанных растворами различных наночастиц (магнетита и металлооксидных бронз), на деформационный отклик.

В качестве контроля распространения тепла и изменения деформационного отклика хрящевой ткани на лазерное воздействие при пропитке наночастицами нами был выбран метод эластографии, использующий оптическую когерентную томографию (ОКТ). Данный метод

прекрасно позволяет оценить и визуализировать упругие свойства ткани и деформационные процессы на глубине порядка 1–2 мм [13,14].

В работе использовались наночастицы магнетита Fe_3O_4 , которые были синтезированы в Лаборатории биофотоники ИФТ ФНИЦ „Кристаллография и фотоника“ РАН методом осаждения водного раствора солей FeCl_2 и FeCl_3 с добавлением основания в атмосфере инертного газа при комнатной температуре [7], и наночастицы металлооксидной бронзы оксида титана $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$, произведенные методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза [15]. Предварительно перед пропиткой производилась подготовка растворов наночастиц с одинаковой концентрацией.

При исследовании ОКТ-эластографией вначале с целью уменьшения влияния анизотропии структуры тканей и исключения использования в экспериментах ценного биологического материала, в качестве образцов использовались фантомы, моделирующие температурные свойства и однородную структуру хрящевой ткани [16], с растворами наночастиц $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$, Fe_3O_4 и контрольный образец ПААГ без наночастиц.

Настоящая работа не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов. В качестве биологического объекта использовались срезы гиалинового хряща свиньи, полученные с бойни (рис. 1, б). Образцы подготавливались при помощи специальных резакков, позволяющих получить образцы одинакового размера и массы. Образцы хранились в физиологическом растворе не более четырех дней при температуре 2°C . Предварительно перед пропиткой растворами наночастиц срезы хрящевой ткани подвергались лазерной обработке в двух режимах: травмирующий режим для моделирования серьезной травмы хряща — лазерное воздействие проводилось с высокой мощностью, вследствие чего в хрящевой ткани оставались зоны дегидратированного матрикса (на рис. 1, б —

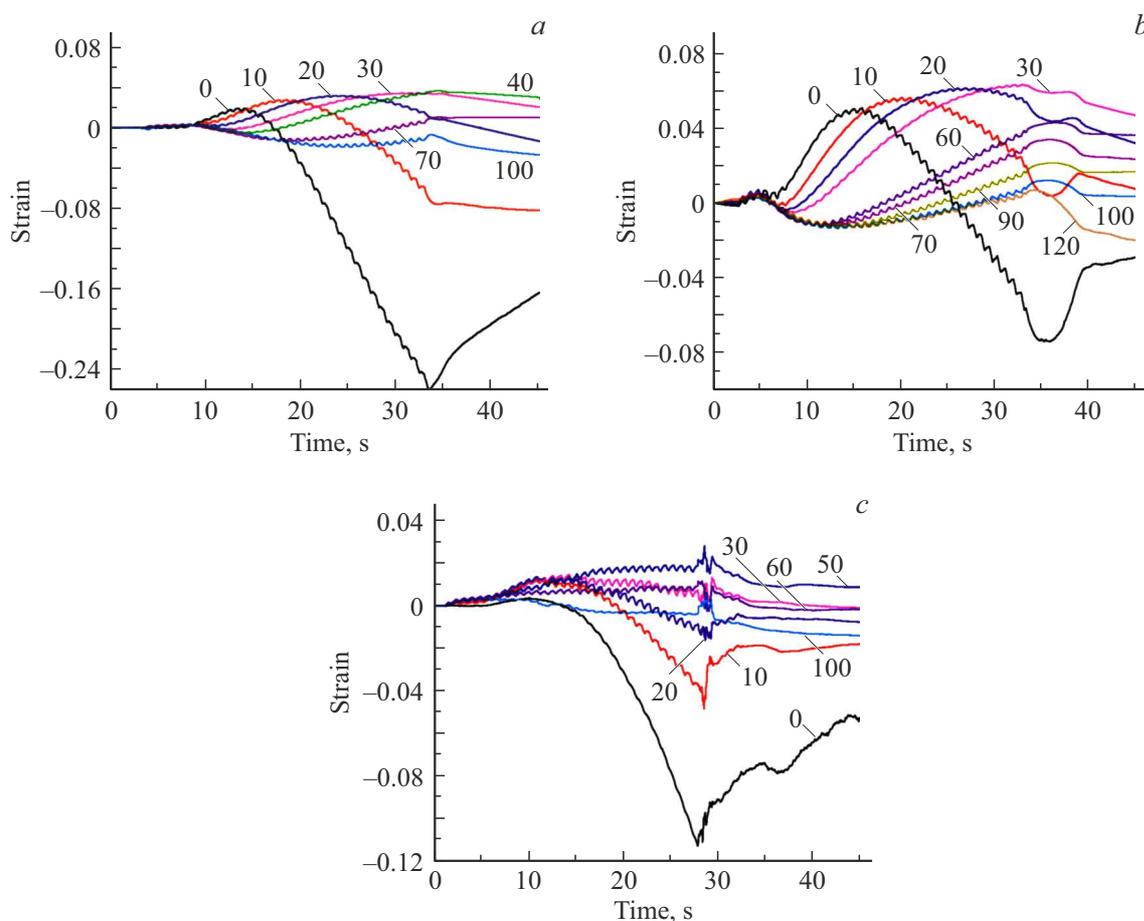


Рис. 2. Графики внутренних деформаций хрящевой ткани по глубине для (а) ПААГ без наночастиц, (б) ПААГ с наночастицами $\text{Na}_0.2\text{TiO}_2$, (с) ПААГ с наночастицами магнетита.

области с измененными оптическими характеристиками более темного цвета); щадящий режим — для создания области повышенного порообразования [3]. Также часть образцов оставалась нетронутой, интактной, и служила контролем. Таким образом, исследование проводилось на четырех типах образцов: интактная ткань без наночастиц, интактная ткань после пропитки раствором наночастиц, ткань после травмирующего лазерного воздействия и пропитки раствором наночастиц, ткань после щадящего лазерного воздействия и пропитки раствором наночастиц.

Во всех случаях облучение проводилось с помощью эрбиевого волоконного лазера с длиной волны $1.56 \mu\text{m}$ в импульсно-периодическом режиме. Для хрящевой ткани эксперимент был проведен с концентрацией наночастиц 1 mg/ml .

В работе использовалась установка ОКТ-эластографии, созданная в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород) группой под руководством В.Ю. Зайцева, с областью визуализации 4 mm в ширину и 2 mm в глубину, позволяющая получить зависимость внутренних деформаций от времени.

Результаты

В результате были получены картины внутренних деформаций ПААГ без наночастиц и с наночастицами и графики распределения внутренних напряжений и деформаций по глубине вдоль оси лазерного луча (рис. 2).

Анализ полученных графиков показал увеличение глубины распространения деформации для образцов с наночастицами металлооксидных бронз натрия титана, а также увеличение деформации растяжения в 1.5 раза по сравнению с ПААГ без наночастиц. Полиакриламидные гидрогели с наночастицами магнетита в концентрации 10 mg/ml при ОКТ-эластографии образцов давали „засветы“ и искажение картины деформаций, а также частые разрывы поверхности ПААГ.

При исследовании методом ОКТ-эластографии образцов хрящевой ткани, пропитанной наночастицами магнетита в концентрации 1 mg/ml , были получены временные зависимости межкадровой деформации при лазерном воздействии. В результате показано следующее.

— Интактные образцы, не пропитанные растворами наночастиц, реагируют на лазерный импульс резким пиком деформаций с быстрой релаксацией.

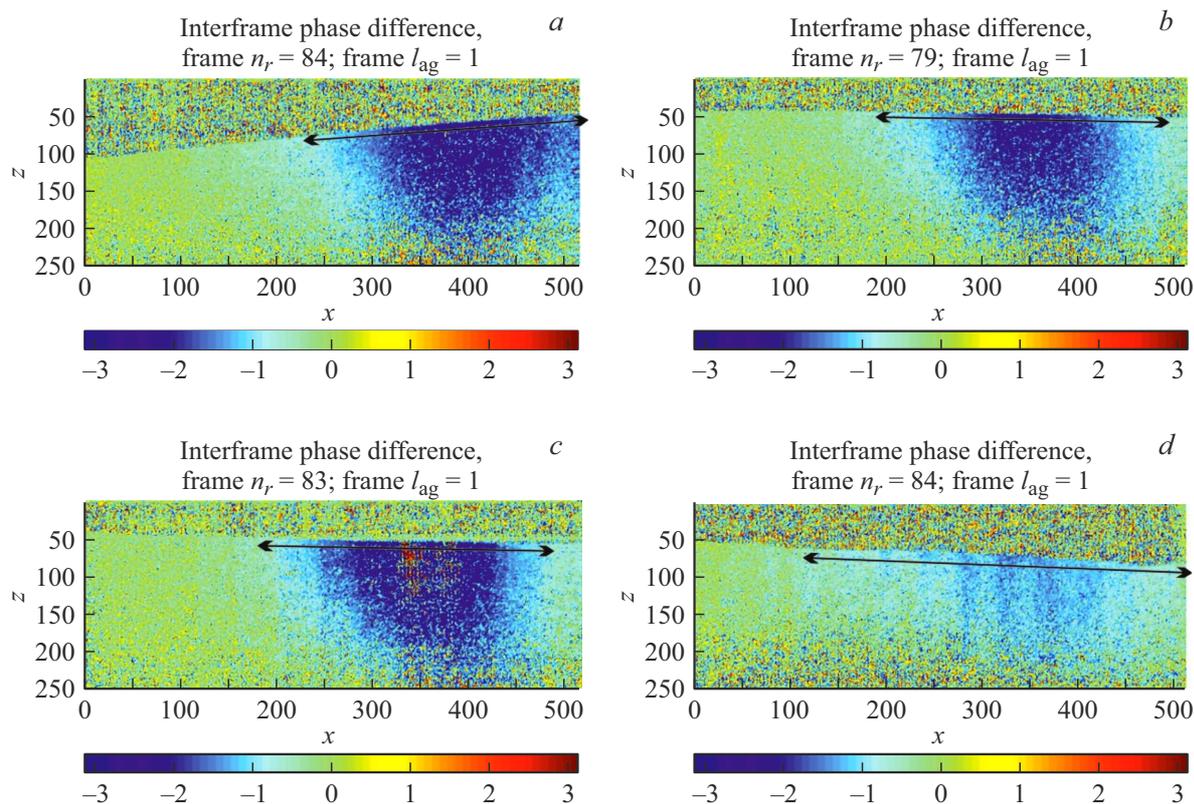


Рис. 3. Деформационная картина при первом лазерном импульсе для (а) интактной ткани, (б) интактной ткани, пропитанной наночастицами магнетита, (с) ткани после лазерного воздействия и пропитки наночастицами магнетита, (д) ткани после щадящего лазерного воздействия и пропитки наночастицами магнетита. Черными стрелками обозначена примерная ширина сечения объема, в котором наблюдаются деформационные изменения.

– Интактная ткань, пропитанная наночастицами магнетита, имеет незначительно больший деформационный отклик по амплитуде в сравнении с тканью без наночастиц, и их скорости релаксации совпадают.

– Для ткани после щадящего и травмирующего лазерных воздействий и пропитки наночастицами наблюдается замедление релаксации более чем в 2 раза.

Анализ деформаций ткани при первом лазерном импульсе (рис. 3) выявил тот факт, что различия между распространением деформации в интактной ткани и ткани после импрегнации практически нет, что подтверждает сложность проникновения наночастиц в свежую/интактную хрящевую ткань. Для ткани после серьезной лазерной травмы очевидны нарастание внутренних деформаций и их локализация в месте лазерного воздействия, что свидетельствует о проникновении наночастиц в толщу ткани и влиянии на поглощающую способность хрящевой ткани в местах скопления наночастиц, что дает усиление отклика биоткани на лазерное воздействие.

ОКТ-картина для хрящевой ткани после слабого лазерного воздействия демонстрирует явное уменьшение внутренних деформаций тканей и увеличение площади воздействия на боковом сечении (рис. 3, д) при лазерном

импульсе по сравнению с деформационной картиной для интактной ткани.

Обсуждение

Несмотря на то, что для ПААГ с наночастицами магнетита общая амплитуда деформаций меньше, чем для ПААГ без наночастиц и пропитанных наночастицами $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$, сравнение пиков деформаций от отдельных лазерных импульсов, особенно на малой глубине, выявили обратную зависимость — амплитуда отдельных пиков больше у ПААГ с магнетитом. Это является важной особенностью, так как для порообразования при лазерном воздействии, которое в дальнейшем может привести к запуску регенерации, важно колебание знака деформаций (сжатие/растяжение) с определенной частотой, которые создают знакопеременные поля термонапряжений [17]. Таким образом, можно сделать вывод, что несмотря на то, что данные типы наночастиц (магнетит Fe_3O_4 и металлооксидная бронза $\text{Na}_{0.2}\text{TiO}_2$) имеют одинаковое влияние на скорость роста температуры при лазерном воздействии эрбиевым волоконным лазером с длиной волны $\lambda = 1.56 \mu\text{m}$, деформационный отклик ткани при этом различен.

Важно отметить, что в экспериментах на хрящевой ткани из-за ее анизотропии, а также частичной дегидратации на воздухе в динамической картине ОКТ наблюдается не всегда линейный сдвиг картины деформаций, что влечет за собой сложные расчеты при оценке деформаций.

Картинки деформаций при лазерном воздействии на хрящевую интактную ткань — без наночастиц и ткань, пропитанную наночастицами, практически неразличимы, что подтверждает ранее сделанное заключение о том, что хрящевая ткань устойчива к проникновению иностранных наноразмерных объектов.

Моделирование сильных повреждений хряща с помощью лазерной обработки хряща приводит к появлению областей дегидратации и повреждения матрикса, которые, в свою очередь, во-первых, создают пути для прохождения наночастиц в толщу ткани, а во-вторых, создают более упругие области с отличными значениями модуля Юнга, что препятствует быстрой релаксации деформаций от лазерного импульса и ведет к накоплению напряжений в области лазерного воздействия. Щадящее лазерное воздействие, напротив, создает дополнительную пористую систему, что приводит к увеличению зоны деформаций при лазерном импульсе и согласуется с выводом о более легком проникновении наночастиц в области с увеличенной пористостью структуры, что также подтверждается замедлением скорости релаксации.

Заключение и выводы

Было продемонстрировано, что наночастицы магнетита Fe_3O_4 и металлооксидной бронзы $Na_{0.2}TiO_2$, проявляющие одинаковый фототермический эффект в хрящевой ткани и увеличивающие ее нагрев на 15%, имеют различное влияние на деформационный отклик ткани при лазерном воздействии эрбиевым волоконным лазером.

Анализ проведенной ОКТ-эластографии на полиакриламидных фантомах показал увеличение общей деформации в результате введения наночастиц металлооксидных бронз натрия титана и увеличение амплитуды деформации от единичного лазерного импульса при введении наночастиц магнетита в сравнении с ПААГ без наночастиц. Так как эксперименты с ОКТ-эластографией предварительно проводились на ПААГ, это позволило заметить искажение картины при высокой концентрации магнетита и скорректировать ее при экспериментах на биоткани, уменьшив концентрацию до оптимальной 1 mg/ml.

Различный фототермический эффект нагрева хрящевой ткани возникает из-за разного проникновения наночастиц в хрящевую ткань с разной структурой. Продемонстрировано, что биоткань, травмированная лазерным воздействием, подвержена проникновению наночастиц и увеличению внутренней деформации под воздействием

лазерного излучения. Слабое лазерное воздействие может перераспределить плотность тканей, что уменьшает амплитуду и увеличивает зону деформаций. Подтверждено, что так как интактная ткань практически не пропускает наночастиц, картины ОКТ-деформаций для интактной ткани и ткани после пропитки раствором наночастиц практически не отличаются.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ „Кристаллография и фотоника“ РАН.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] *United States Bone and Joint Initiative* [Электронный ресурс]. URL: <https://usbj.org/about>
- [2] R. Mladina, E. Čujić, M. Šubarić, K. Vuković. *Am. J. Otolaryngology*, **29** (2), 75–82 (2008). DOI: 10.1016/j.amjoto.2007.02.002
- [3] E. Sobol, O. Baum, A. Shekhter, S. Wachsmann-Hogiu, A. Shnirelman, Y. Alexandrovskaya, I. Sadovskyy, V. Vinokur. *J. Biomed. Opt.*, **22** (9), 091515 (2017). DOI: 10.1117/1.JBO.22.9.091515
- [4] O.I. Baum, Yu.M. Soshnikova, E.N. Sobol, A.Y. Korneychuk, M.V. Obrezkova, V.M. Svistushkin, O.K. Timofeeva, V.V. Lunin. *Las. Surg. Med.*, **43** (6), 511–515 (2011). DOI: 10.1002/lsm.21077
- [5] O.I. Baum, Yu.M. Alexandrovskaya, V.M. Svistushkin, S.V. Starostina, E.N. Sobol, *Laser Phys. Lett.*, **16** (3), 035603 (2019). DOI: 10.1088/1612-202X/aafd21
- [6] О.И. Баум, В.В. Голубев, А.И. Омельченко, Э.Н. Соболев, А.Б. Шехтер. *Материалы III Евразийского конгресса по медицинской физике* (М., 2010). 3, 222–224.
- [7] Yu.M. Soshnikova, S.G. Roman, N.A. Chebotareva, O.I. Baum, M.V. Obrezkova, R.B. Gillis, S.E. Harding, E.N. Sobol, V.V. Lunin. *J. Nanopart. Res.*, **15**, 2092 (2013). DOI: 10.1007/s11051-013-2092-5
- [8] Yu.M. Soshnikova, A.I. Omelchenko, A.B. Shekhter, E.N. Sobol. *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering* (William Andrew Publishing, Norwich, NY, 2016). ch. 15. pp. 443–472. DOI: 10.1016/B978-0-323-42862-0.00015-8
- [9] E.M. Kasianenko, A.I. Omelchenko, E.N. Sobol. *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.*, **80**, 463–466 (2016). DOI: 10.3103/S1062873816040171
- [10] Е.М. Касьяненко, А.И. Омельченко. *Ученые записки физического факультета Московского университета*, **2**, 1920302–1920302 (2019).
- [11] В.Ю. Афонькин, К.Г. Добрецов, А.К. Кириченко, В.П. Ладыгина, А.В. Сипкин. *Сибирское медицинское обозрение*, **50** (2), (2008).
- [12] А.И. Омельченко, Э.Н. Соболев. *Перспективные материалы*, **8**, 125–128 (2010).

- [13] V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, A.I. Omelchenko, D.V. Shabanov, O.I. Baum., V.M. Svistushkin., E.N. Sobol. *Laser Phys. Lett.*, **13** (11), 115603 (2016). DOI: 10.1088/1612-2011/13/11/115603
- [14] V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, A.I. Omelchenko, O.I. Baum, S.E. Avetisov, A.V. Bolshunov, V.I. Siplivy, D.V. Shabanov, A. Vitkin, E.N. Sobol. *J. Biophotonics*, **10** (11), 1450–1463 (2017). DOI: 10.1002/jbio.201600291
- [15] П.Ю. Гуляев, М.К. Котванова, А.И. Омельченко. *Физика и химия обработки материалов*, **4**, 74–82 (2017).
- [16] V.A. Fedulova, A.V. Yuzhakov, O.I. Baum. *J. Biomed. Photonics & Engineering*, **6** (1), 010302 (2020).
- [17] Ю.М. Александровская, О.И. Баум, А.Б. Шехтер, О.А. Тифлова, А.К. Дмитриев, Е.В. Петерсен, Э.Н. Соболев. В сб. *Лазеры в науке, технике, медицине*. Под ред. В.А. Петрова (Московское НТО радиотехники, электроники и связи им. А.С. Попова, 2019). С. 156–160.