

# Biologinių audinių diagnostinis vaizdinimas fluorescencijos gyvavimo trukmių mikroskopija (FLIM) modelinio reumatoidinio artrito atveju

Romualdas Rudys<sup>a,b</sup>, Jurga Papečkienė<sup>c</sup>, Saulius Bagdonas<sup>a</sup>, Gailutė Kirdaitė<sup>c</sup>, Ričardas Rotomskis<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Vilniaus universitetas, Fizikos fakultetas, Saulėtekio al. 9, LT-10222 Vilnius

<sup>b</sup>Vilniaus universiteto onkologijos institutas, Mokslinių tyrimų centras, P. Baublio g 3b, LT-08406, Vilnius

<sup>c</sup>Valstybinis mokslinių tyrimų institutas, Inovatyvios medicinos centras, Žygimantų 9, LT-01102 Vilnius



## Išvadas

\* Vis daugiau tyrimų skiriama koreliacijos paieškoms tarp sveikų bei sensibilizuotų audinių fluorescencijos gyvavimo trukmių ar spektrų ir biologinių patologijų. Šiame darbe tyrinėti antigeno indukuoto reumatoidinio artrito (RA) triušio kelio sąnaryje sinovijos ir kremzlės audiniai.

\* RA yra lėtinė uždegiminė sąnarių liga, kuriai būdinga sinovijos hiperplazija, o vėlesnėse stadijose – kremzlės ir kaulinių struktūrų pažeidimas

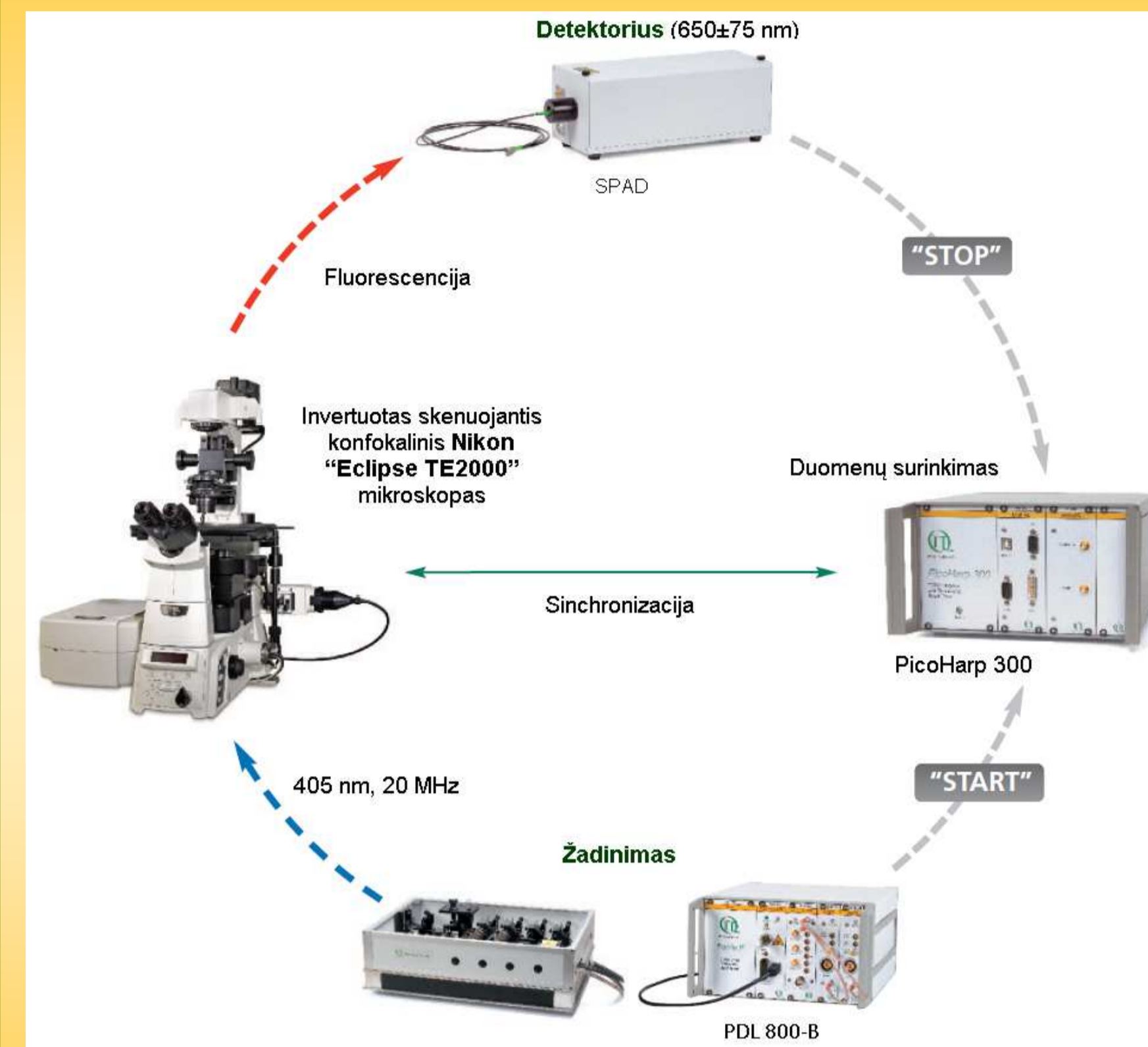
\* RA uždegiminei sinovijai būdinga daug požymių, kuriais pasižymi navikiniai audiniai, todėl fotodinaminė terapija (FDT) galėtų būti vienas iš gydymo būdų.

\* Paveikus audinius egzogenine 5-aminolevulinine rūgštimi (ALA), audiniai su padidėjusiu metaboliniu aktyvumu sukaupia didesnius endogeninio fotosensibilizatoriaus protoporfirino IX (PpIX) kiekius negu sveiki audiniai.



Šis darbas skirtas sveikų ir sensibilizuotų audinių diagnostiniam vaizdinimui FLIM metodu bei jo taikymams aptikti morfologines audinių struktūras.

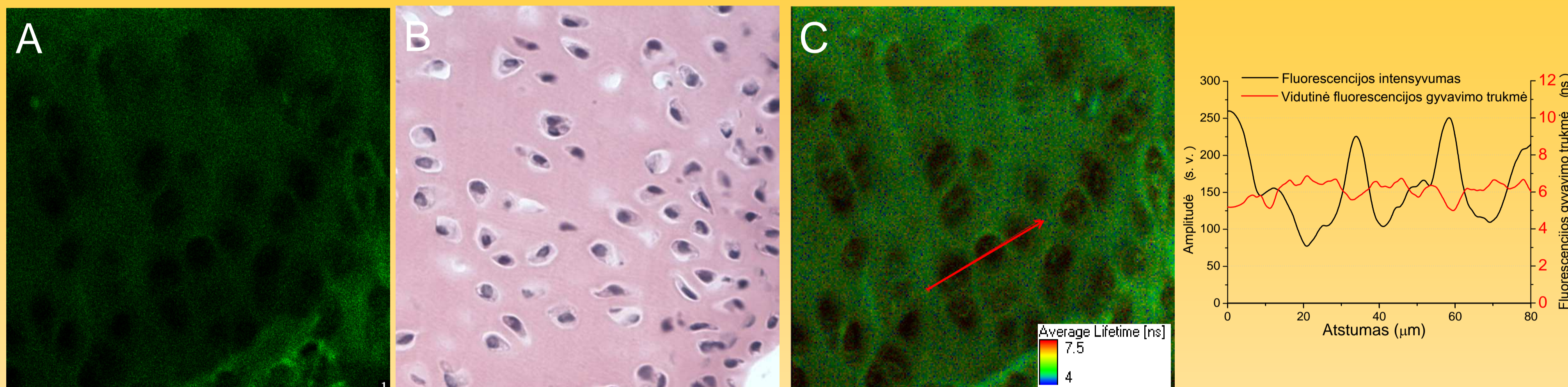
## Medžiagos ir metodai



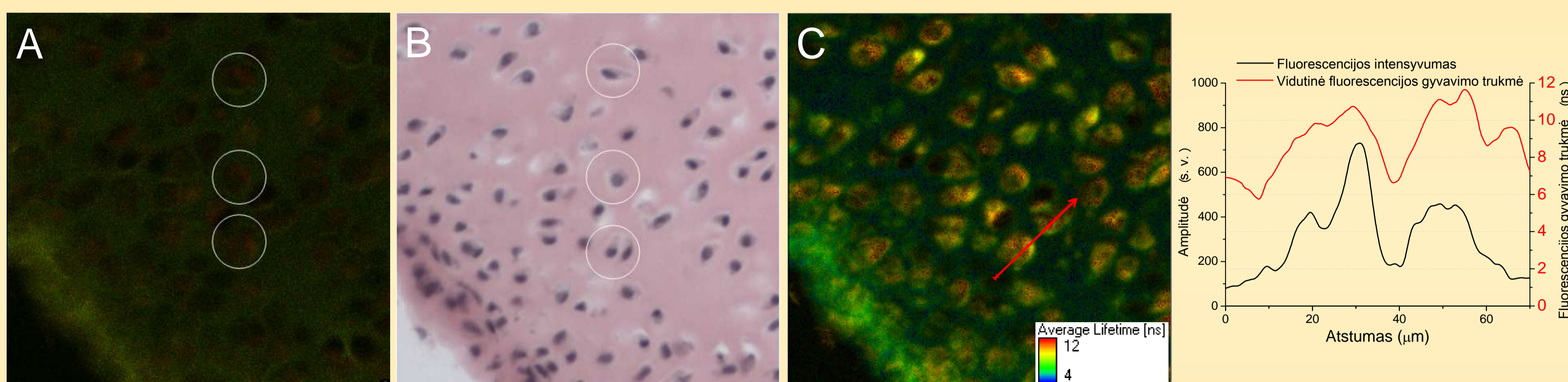
Audinių fluorescencijos gyvavimo trukmių vaizdinimas atliktas skenuojančiu konfokaliniu Nikon "Eclipse TE2000" mikroskopu, į kurį įvesta impulsinio diodinio lazerio (405 nm, 20 MHz) (PDL 800-B, PicoQuant GmbH, Berlin, Germany) spinduliuotė. FLIM atliktas vieno kanalo laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo (TCSPC) modulių PicoHarp 300. Audinių fluorescencijos gyvavimo trukmės registruotos 650±75 nm spektro srityje vieno kanalo SPAD detektoriumi.

Kremzlės ir sinovijos audiniai sušaldyti izopentane ir supjaustyti kriomikrotomu 15 μm storio pjūviais. Triušių sensibilizacijai naudotas 1 ml 16 mM ALA-Me tirpalas.

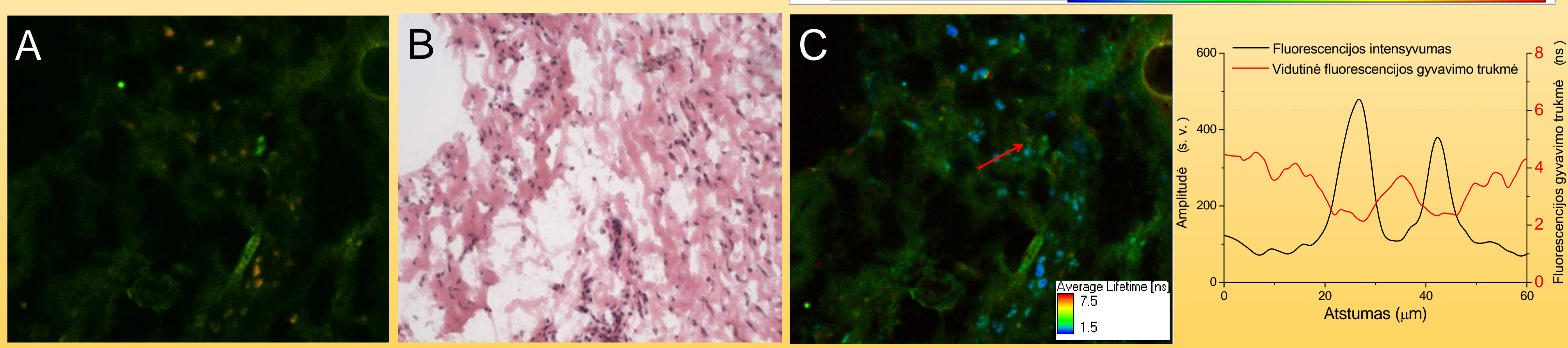
## Kontrolinių ir sensibilizuotų ALA-Me audinių FLIM



Sveiko triušio kremzlės vaizdai: A – fluorescencinės mikroskopijos, B – histologinis, C – FLIM, D – fluorescencijos gyvavimo trukmių pasiskirstymas FLIM vaizde.

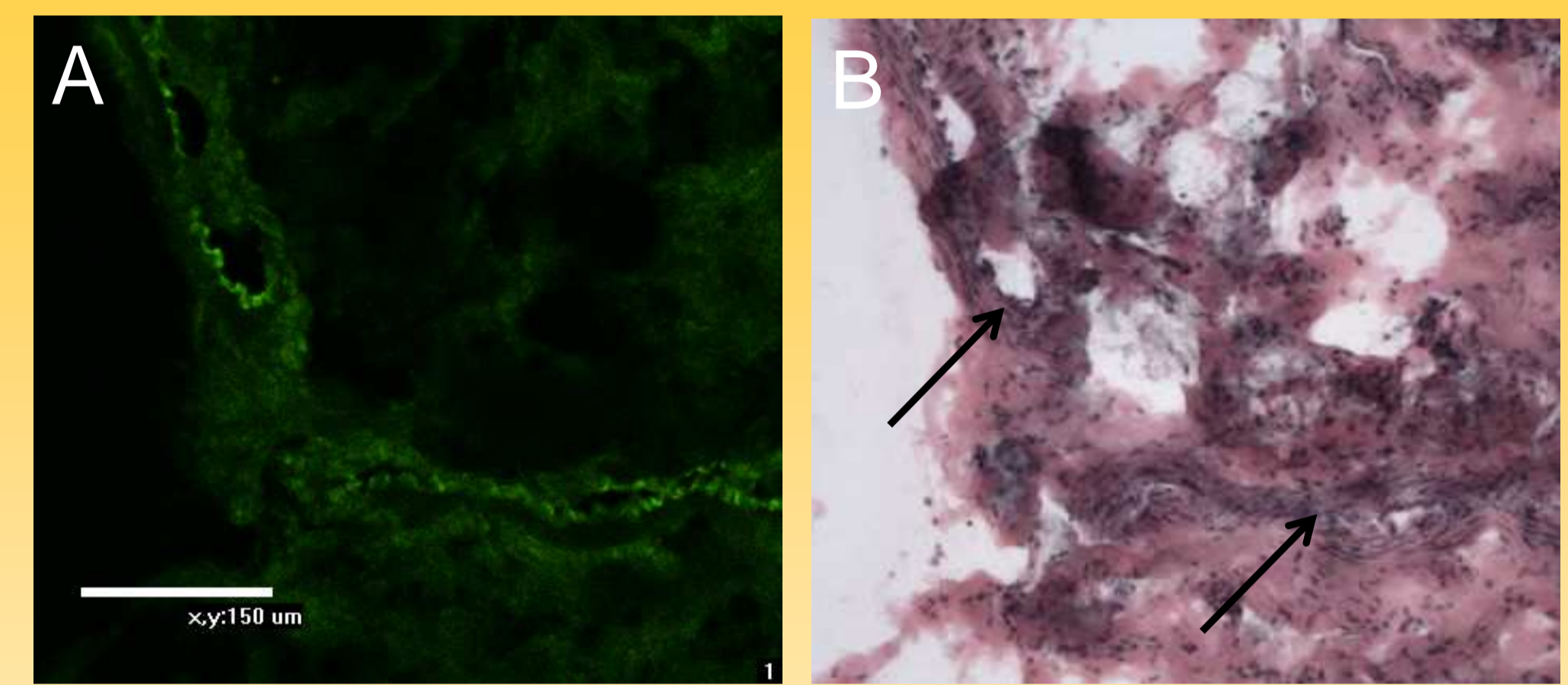


Sensibilizuoto triušio kremzlės vaizdai: A – fluorescencinės mikroskopijos, B – histologinis, C – FLIM, D – fluorescencijos gyvavimo trukmių pasiskirstymas FLIM vaizde.

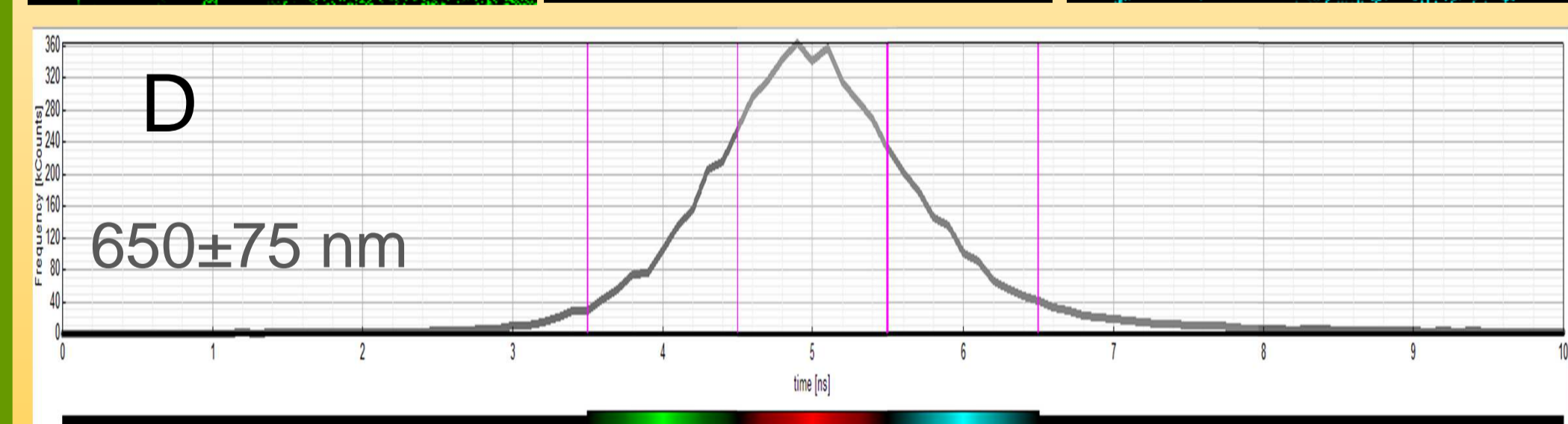
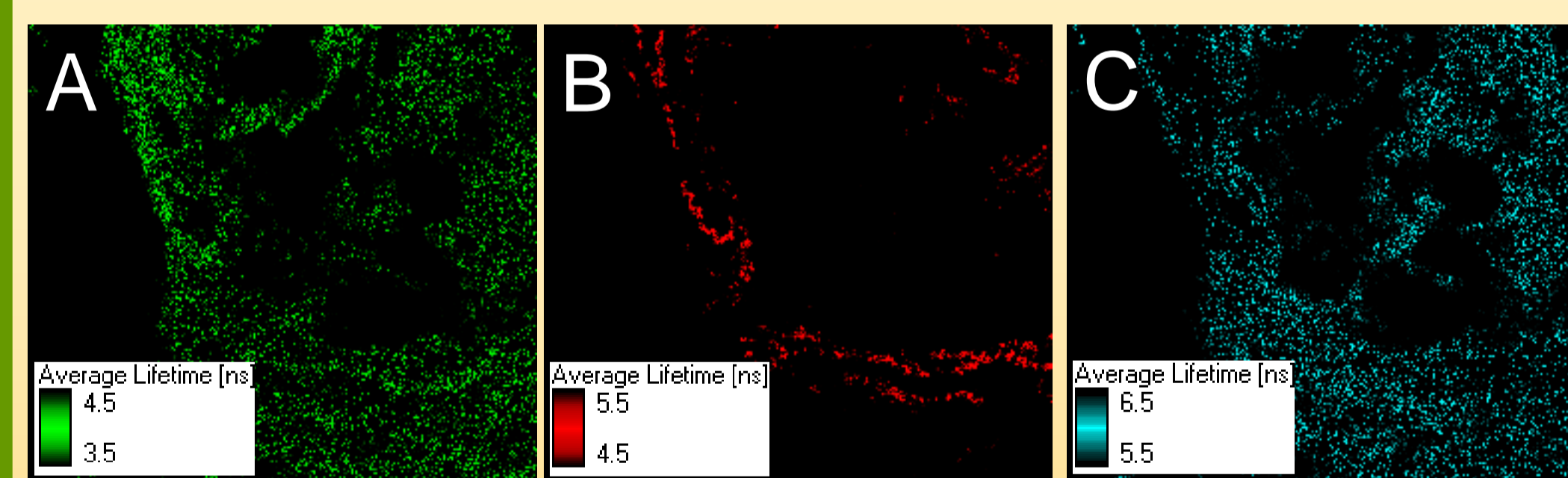


Sensibilizuoto triušio sinovijos vaizdai: A – fluorescencinės mikroskopijos, B – histologinis, C – FLIM, D – fluorescencijos gyvavimo trukmių pasiskirstymas FLIM vaizde.

## Audinių morfologinės struktūros



Triušio kelio sąnario sinovijos vaizdai: A – fluorescencinės mikroskopijos, B – histologinis, C – FLIM. Rodykle pažymėta kraujagyslės sienelė.



A-C – FLIM vaizdai trumpesniais fluorescencijos gyvavimo trukmių intervalais. D – fluorescencijos gyvavimo trukmių pasiskirstymas FLIM vaizde.

Audinys	Fluorescencijos gyvavimo trukmės (ns)		
Kontrolinė kremzlė	–	4-7,5	–
Sensibilizuota kremzlė	–	4-7,5	7,5-12
Kontrolinė sinovija	–	3-7,5	–
Sensibilizuota sinovija	1,5-3	3-7,5	7,5-10

## Išvados

- FLIM vaizdų analizė parodė, kad audinyje gali būti išskirtos tam tikros morfologinės struktūros su savitomis fluorescencijos gyvavimo trukmėmis, regimos ir histologiniuose vaizduose.
- Sensibilizuotų audinių FLIM vaizduose galima išskirti endogeninius porfirinus, pasižyminčius skirtingomis fluorescencijos gyvavimo trukmėmis, kurių negalima išskirti fluorescencinės mikroskopijos vaizduose dėl persiklojančių fluorescencijos spektrų.