

УДК 616-079

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОИГОЛЬНЫХ АППЛИКАТОРОВ ДЛЯ ОТБОРА ПОДКОЖНОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ ЗАДАЧ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

¹Зайцева Н.В., ²Землянова М.А., ³Праузнитц М.Р., ¹Звездин В.Н.

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, e-mail: zvezdin@fcrisk.ru;

²ГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, e-mail: zem@fcrisk.ru;

³Технологический институт Джорджии, Атланта, e-mail: mark.prausnitz@chbe.gatech.edu

Проведен анализ перспективности оценки показателей подкожной интерстициальной жидкости по обобщению данных, представленных в современных аннотируемых литературных источниках как зарубежных, так и отечественных авторов. Установлены приоритетные показатели, коррелирующие с аналогичными показателями в венозной крови, позволяющие в режиме реального времени оценивать активность обменных процессов в организме. Засвидетельствована большая информативность оценки содержания белковых маркеров, содержащихся в подкожной межклеточной жидкости, по сравнению с венозной кровью, что может повысить эффективность изучения протеомного профиля человека и раннюю диагностику опухолевых процессов. Проанализирован спектр современных методов, позволяющих отбирать подкожную интерстициальную жидкость. Выбрана наиболее эффективная, безопасная и экономически целесообразная технология отбора подкожной интерстициальной жидкости для задач лабораторной диагностики, реализующаяся при помощи микроигольных аппликаторов.

Ключевые слова: подкожная интерстициальная жидкость, малоинвазивные способы, лабораторная диагностика, микроигольные аппликаторы

THE PROSPECTS FOR USING MICRO-NEEDLE APPLICATORS TO COLLECT SUBCUTANEOUS INTERSTITIAL FLUID SAMPLES FOR LABORATORY DIAGNOSIS

¹Zaitseva N.V., ²Zemlyanova M.A., ³Prausnitz M.R., ¹Zvezdin V.N.,

¹Federal Scientific Center of Health Prevention Processes of Health Risk Management, Federal State Institution of Science, Perm, e-mail: zvezdin@fcrisk.ru;

²State Educational Institution of Higher Professional Education «Perm State University National Research», Perm, e-mail: zem@fcrisk.ru;

³Georgia Institute of Technology, Atlanta, e-mail: mark.prausnitz@chbe.gatech.edu

We have analyzed the prospects for evaluating subcutaneous interstitial fluid parameters by generalizing data reported by both Russian and foreign authors in current peer-reviewed journals. We have identified key parameters, which allow a real-time evaluation of the activity of human metabolic processes and which correlate with similar parameters of venous blood. The evaluation of the levels of protein markers, contained in subcutaneous interstitial fluid, in comparison with that in venous blood, has been proven to be highly informative and it can increase the effectiveness of investigating the proteomic profile in humans and allows performing early diagnosis of neoplastic processes. We analyzed a range of current methods for collecting subcutaneous interstitial fluid samples. We have chosen the most effective, safe and economically feasible technique for collecting subcutaneous interstitial fluid for laboratory diagnosis – a technique using micro-needle applicators.

Keywords: subcutaneous interstitial fluid, low-invasive methods, laboratory diagnosis, micro-needle applicators

Одной из проблем лабораторной диагностики является инвазивность методов отбора биологических сред (кровь), что является существенно ограничивающим фактором, особенно в педиатрической практике. Актуальным является разработка малоинвазивных способов отбора биологических сред, отражающих активность обменных процессов в организме человека в момент исследования [1]. Отбор венозной крови всегда сопровождается нарушением целостности не только кожных покровов, но и сосудистой стенки, что не позволяет отнести его к малоинвазивным несмотря на

высокую степень модернизации устройств для отбора крови.

При оценке различных биологических сред необходимо учитывать, что уровень биохимических показателей в них может отличаться от уровня аналогичных показателей в крови, а некоторые среды, такие как плевральный выпот, образуются только во время манифестации патологического процесса [2]. Анализ существующих подходов показал перспективность оценки биохимических показателей подкожной интерстициальной жидкости, так как данная биосреда в высокой степени информативна и в насто-

ящее время существует возможность её отбора малоинвазивным методом.

Целью данной работы являлась оценка перспективности использования микроигольных аппликаторов для отбора подкожной интерстициальной жидкости для исследования биохимических показателей, отражающих активность обменных процессов в организме человека.

Интерстициальная жидкость находится в интерстициальном пространстве вне лимфатических, кровеносных сосудов и паренхиматозных клеток, что обуславливает отсутствие в ней эритроцитов. Обмен интерстициальной жидкости в организме обуславливается работой сердца, определяющей активность трансапиллярного обмена [3]. В своей структуре интерстициальная жидкость содержит всё многообразие регуляторных компонентов, определяющих физическое и биохимическое микроокружение клеток [4].

На сегодняшний день существуют данные, подтверждающие минимальное различие между уровнем активности ряда показателей, содержащихся в интерстициальной жидкости и в крови. Содержание электролитов в интерстициальной жидкости идентично их содержанию в венозной крови и спинномозговой жидкости [5]. По уровню глюкозы также не установлено значимых различий [6, 7]. По показателям содержания общего белка, IgG и лактата возможно проведение корреляционных зависимостей с их содержанием в венозной крови [2].

Исследование интерстициальной жидкости широко применяется для изучения протеомного профиля человека по определению уровня специфических протеинов в целях диагностики опухолевого процесса [8]. Существует мнение, что интерстициальная жидкость является более информативной средой для оценки протеомного профиля человека по сравнению с кровью [8].

Определение уровня глюкозы в интерстициальной жидкости является одним из приоритетных направлений в неинвазивной диагностике в целях мониторинга активности гликемических процессов у людей с сахарным диабетом [7]. Существующие технологии позволяют определить уровень глюкозы в режиме реального времени при помощи накожных и подкожных инфракрасных датчиков [6].

Ценность исследования подкожной интерстициальной жидкости заключается в её доступности для малоинвазивного отбора. На сегодняшний день существует несколько подходов к малоинвазивному отбору. Одним из первых являлся метод микродиализа, позволяющий отбирать аналит через

полупроницаемую мембрану [9]. С помощью этого метода можно отбирать эндогенные и экзогенные вещества из внеклеточного пространства, в основном – небольшие молекулярные частицы. В настоящее время наблюдается повышенный интерес к использованию данной технологии в фармакокинетических и фармакодинамических исследованиях [10], он также применяется для изучения протеомного профиля [11]. Недостатком этого метода является развитие потенциальных воспалительных реакций в результате введения зонда и невозможность отбирать все компоненты межтканевой жидкости [11]. Следующим подходом к отбору интерстициальной жидкости стал метод капиллярной ультрафильтрации, традиционно использовавшийся для разделения или очистки химических веществ, этот метод был применен также к образцу тканевой жидкости путем имплантации капиллярных зондов ультрафильтрации [12]. В основе метода лежит использование отрицательного давления в качестве движущей силы, а за счет изменения фильтрующей способности полупроницаемой мембраны задается необходимый размер отбираемых компонентов, необходимых для исследования. Эта методика использовалась для отбора тканевой жидкости из кожи и фибросарком у мышей [13] с использованием мембран с MW на 400 кДа, для обеспечения отбора в пробы белков, секретируемых в межклеточной жидкости. Но концентрация белка в полученных данным методом пробах не соответствовала отобранному с помощью других методов и не коррелировала с содержанием белков в крови.

Современные технологии, основанные на микромолдинге, позволяющие производить наноразмерные микроиглы, обеспечивают максимально малоинвазивный подход к отбору межтканевой жидкости. В исследовательских целях созданы образцы, позволяющие вводить в подкожное межтканевое пространство полые микроиглы, содержащие нанодатчики, позволяющие оценивать уровень глюкозы, pH и электролитов [14]. Существенным недостатком является то, что данные образцы дорогостоящи и неприемлемы для массового внедрения в связи с экономической нецелесообразностью. Альтернативой является использование микроаппликаторов с полимерной подложкой из метилцеллюлозы, позволяющие отбирать подкожную интерстициальную жидкость без потери протеиновой фракции для последующего анализа на сертифицированных биохимических анализаторах [15, 16]. Так же данный подход позволяет осуществлять направленную внутриклеточную

доставку фармакологических препаратов [15]. Данный подход позволяет обеспечить безопасный отбор проб за счет свойств полимера, который растворяется в подкожном слое после окончания процедуры отбора по аналогии с криоиглами [9].

Таким образом, оценка биохимических показателей подкожной интерстициальной жидкости, отобранной при помощи микроигольных аппликаторов, является перспективным методом для оценки уровня активности обменных процессов организма человека. Данный подход позволяет отбирать более информативные, по сравнению с венозной кровью, образцы для оценки протеомного профиля. Отбор подкожной интерстициальной жидкости при помощи микроигольных аппликаторов позволит снизить риск развития осложнений, связанных с нарушением целостности кожных покровов при оценке уровня глюкозы, электролитов, иммуноглобулинов и протеинов. В дальнейшем, перечень этих показателей может быть расширен.

Работа выполнена при финансовой поддержке министерства образования Пермского края проекта международной исследовательской группы «Микроигольные технологии – будущее диагностики».

Список литературы

1. Прогноз развития медицинской науки на период до 2025 года. – М. – 72 с.
2. Balfe A., Barry S., Blake O. The Biochemistry of Body Fluids. – ACBI Scientific Committee Guidelines, 2009. – 25 p.
3. Aukland K., Nicolaysen G. Interstitial fluid volume: local regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.* – 1981. – Vol. 61, № 3. – P. 556–644
4. Bert J.L., Pearce R.H. The interstitium and microvascular exchange// In: *Handbook of Physiology: The cardiovascular system. Microcirculation.* – MD: American Physiological Society, 1984. – Vol. 4. – P. 521–547.
5. Тупякова О.В. Модуляция двигательных рефлексов при компрессии пояснично-крестцовых спинномозговых корешков и сопутствующие изменения электролитов сыворотки крови: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ульяновск, 2008. – 17 с.
6. Staut Ph., Kristen P., Debra M. Variation of glucose in Interstitial Fluid Samples and Correlation to Venous Plasma Glucose // *Clinical Chemistry.* – 1999. – Vol. 45. – № 9. – P. 1674–1676.
7. Celine M., Celine H., Monique G. Continuous glucose monitoring: A review of biochemical perspective and clinical use in type I diabetes // *Clinical Biochemistry.* – 2009. – Vol. 42. – P. 136–142.
8. Hanne H., Eystein O., Kaja C., et al. A New Method for Isolation of Interstitial Fluid from Human Solid Tumors Applied to Proteomic Analysis of Ovarian Carcinoma Tissue // *PLoS One.* – 2011. – № 4. – e19217.
9. Dabrosin C. Microdialysis: an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer // *Front Biosci.* – 2005. – № 10. – P. 1329–1335.
10. Brunner M., Muller M. Microdialysis: an in vivo approach for measuring drug delivery in oncology // *Eur J. Clin Pharmacol.* – 2002. – № 58. – P. 227–234.
11. Clough G.F. Microdialysis of large molecules // *AAPS J.* – 2005. – № 7. – P.686–692.
12. Leegsma-Vogt G., Janle E., Ash S.R., et al. Utilization of in vivo ultrafiltration in biomedical research and clinical applications // *Life Sci.* – 2003. – № 73. – P. 2005–2018.
13. Huang C.M., Ananthaswamy H.N., Barnes S., et al. Mass spectrometric proteomics profiles of in vivo tumor secretomes: capillary ultrafiltration sampling of regressive tumor masses // *Proteomics.* – 2006. – № 6. – P. 6107–6116.
14. Miller P.R., Skoog S.A., Edwards T.L., et al. Hollow microneedle-based sensor for multiplexed transdermal electrochemical sensing // *J. Vis. Exp.* – 2012. – № 64. – e4067.
15. Choi S.O., Rajaraman S., Yong-Kyu Yoon, et al. 3-D patterned microstructures using inclined UV exposure and metal transfer micromolding // *Solid-State Sensors, Actuators, and Microsystems Workshop.* – 2006. – P. 348–351.
16. Lee J.W., Park J.H., Prausnitz M.R., Allen M.G. (2012) Intracellular protein delivery and gene transfection by electroporation using a microneedle electrode array // *Small.* – 2012. – Vol. 8. – № 7. – P. 1081–1091