

3. Echogenic advantages of ferrogels filled with magnetic sub-microparticles / O.A. Dinislamova, A.V. Bugayova, T.F. Shklyar [et al.] // Bioengineering. – 2021. – Vol. 8, № 10. – P. 140.
4. Mechanical properties of ferrogels based on polyacrylamide filled with strontium hexaferrite microparticles studied using stress-strain and ultrasonography tests / A.V. Bugayova, O.A. Dinislamova, T.F. Shklyar [et al.] // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2466. – № 1.
5. Biomedical applications of aluminium oxide nanoparticles / P. Hassanpour, Y. Panahi, A. Ebrahimi-Kalan [et al.] // Micro & Nano Letters. – 2018. – Vol. 13, № 9. – P. 1227–1231.
6. Dannert, C. Nanoparticle-hydrogel composites: from molecular interactions to macroscopic behavior / C. Dannert, B.T. Stokke, R.S. Dias // Polymers. – 2019. – Vol. 11, № 2. – P. 275.

Сведения об авторах

А.В. Бугаёва* – ассистент
О.А. Динисламова – старший преподаватель
Н.М. Курилова – аспирант
С.В. Немцова – студент
Т.Ф. Шкляр – доктор биологических наук, доцент

Information about the authors

A.V. Bugayova* – Department Assistant
O.A. Dinislamova – Senior Lecturer
N.M. Kurilova – Postgraduate student
S.V. Nemtsova – Student
T.F. Shklyar – Doctor of Sciences (Biology), Associate Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
antonina.v.bugayova@mail.ru

УДК: 620.3

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ ЖЕЛЕЗА И АЛЮМИНИЯ НА ЭХОГЕННОСТЬ КОМПОЗИТНЫХ ГЕЛЕЙ С ХИМИЧЕСКОЙ ИЛИ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОЛИМЕРНОЙ СЕТКОЙ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

Динисламова Ольга Алексеевна¹, Бугаёва Антонина Владимировна¹, Курилова Надежда Михайловна², Шкляр Татьяна Фридриховна^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Полимерные нанокомпозитные гидрогели (ГГ) являются перспективными материалами для различных биомедицинских приложений. Актуальной задачей является исследование особенностей визуализации этих материалов в биологических средах и тканях организма с помощью ультразвуковой (УЗ) локации. **Цель исследования** – определить влияние наночастиц (НЧ) оксидов железа и алюминия на эхогенные свойства гидрогелей с химической и физической полимерной сеткой. **Материал и методы.** Материалами исследования служили композитные ГГ с химической сеткой на основе полиакриламида (ПАА) и физической сеткой на основе альгината кальция (CaAlg), содержащие ферромагнитные НЧ оксида железа (FeO_x) или парамагнитные НЧ оксида алюминия (Al₂O₃). Весовая концентрация НЧ составляла 0% и 1%. Эхогенные свойства оценивались по яркости изображения образцов при ультразвуковой локации с помощью УЗ-аппарата медицинского назначения UF-850 ХТД (Япония). **Результаты.** Добавление НЧ в полимерную сеть гидрогелей в два раза увеличивало интенсивность эхосигнала на границе гель/вода по сравнению с ГГ без НЧ. Внутреннее содержимое ПАА композита не демонстрировало эхогенность, аналогично ГГ без НЧ. Напротив, композит на основе CaAlg приобретал выраженную эхогенность содержимого. **Выводы.** Установлена успешная визуализация всех образцов за счет эхогенности границы гель/вода. Появление эхогенности внутри композита с физической сеткой и ее отсутствие внутри композита с химической сеткой может быть обусловлено особенностями синтеза, и следствием агрегации НЧ в структуре полимера. Влияние типа наночастиц на эхогенные свойства композитов не обнаружено.

Ключевые слова: композитные гидрогели, наночастицы оксидов металлов, эхогенность, биомедицинские приложения.

EFFECT OF IRON AND ALUMINUM OXIDE NANOPARTICLES ON THE ECHOGENICITY OF COMPOSITE GELS WITH CHEMICAL OR PHYSICAL POLYMER NETWORK FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Dinislamova Olga Alekseevna¹, Bugayova Antonina Vladimirovna¹, Kurilova Nadezhda Mikhailovna², Shklyar Tatyana Fridrikhovna^{1,2}

¹Ural State Medical University

²Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Polymeric nanocomposite hydrogels are promising materials for various biomedical applications. An important task is to investigate the features of visualization of these materials in biological media and body tissues using ultrasonic location. **The aim of the study** was to determine the effect of iron and aluminum oxide nanoparticles (NPs) on the echogenic properties of hydrogels with a chemical and physical polymer network. **Material and methods.** Composite hydrogels with chemical network based on polyacrylamide (PAA) and physical network based on calcium alginate (CaAlg) containing iron oxide (FeO_x) ferromagnetic nanoparticles or aluminum oxide (Al_2O_3) paramagnetic NPs were synthesized. The concentration (ω) of NPs was 0% or 1%. Echogenic properties of the materials were characterized by the screen image brightness using an ultrasonic device for medical application UF-850 XTD (Fukuda Denshi, Japan). **Results.** The addition of NPs to the polymer network was accompanied by the increase of the echo-signal intensity at the gel/water interface in comparison with hydrogel without NPs. The internal contents of the composite gel based on PAA were echogenic, the same as the hydrogel without NPs. On the contrary, the CaAlg-based composite had a well-defined echogenicity. **Conclusions.** Successful visualization of all samples was established due to the echogenicity of the gel/water boundary. The appearance of echogenicity inside the composite with a physical network and its absence inside a composite with a chemical network may be related to the process of synthesis and aggregation of NPs in the polymer network structure. The effect of the type of nanoparticles on the echogenic properties of composite hydrogels has not been detected.

Keywords: composite hydrogels, metal oxide nanoparticles, echogenicity, biomedical applications.

ВВЕДЕНИЕ

Полимерные гидрогели находят широкое применение в биомедицине. Они создаются из синтетических или природных полимеров. Например, полиакриламидные гели с химической полимерной сеткой и гели на основе полисахарида альгината с физической сеткой являются широко востребованными для нужд клеточных технологий, заместительной терапии и регенеративной медицины [1].

Функциональные свойства гидрогелей могут быть значительно увеличены за счет внедрения в их структуру нано- или микро-размерных частиц различной природы. В частности, композитные гели на основе полиакриламида или альгината кальция с магнитными частицами оксидов железа являются наиболее изученными и востребованными материалами [2].

Частицы оксида алюминия в составе гелей или других субстанций также используются для различных биомедицинских приложений. Например, в качестве заживляющих повязок, антисептика, сорбента для поглощения вирусов и бактерий, а также в биосенсорах, ортопедических и зубных имплантатах [3].

Эффективность применения нанокомпозитных гидрогелей на практике существенно определяется возможностью идентификации этих материалов в биологических средах и тканях организма. Композиты, содержащие магнитные частицы, могут детектироваться магнитометрическими методами, в клинике это магниторезонансная томография. Данный метод имеет ограниченное применение на практике из-за дороговизны и больших трудозатрат. Вместе с тем, ультразвуковая локация композитов с помощью современных аппаратов медицинского назначения в ряде случаев открывает возможности визуализации композитных гидрогелей различной природы.

Настоящая работа посвящена исследованию акустических свойств перспективных нанокомпозитных гидрогелей на основе природного гидрогеля альгината кальция и синтетического гидрогеля на основе полиакриламида, наполненных наночастицами оксида железа (FeO_x) или оксида алюминия (Al_2O_3). В качестве акустического параметра выбрана эхогенность материала, то есть интенсивность эхосигнала (яркость), отраженного от структур композитов.

Цель исследования – определить влияние наночастиц оксидов железа и алюминия на эхогенные свойства гидрогелей с химической и физической полимерной сеткой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили композитные гидрогели с различными по своей природе полимерными сетками: химической, на основе полиакриламида (ПАА) и физической, на основе альгината кальция (CaAlg). Полимерные сетки во время синтеза были наполнены ферромагнитными наночастицами (НЧ) оксида железа (FeO_x) или парамагнитными НЧ оксида алюминия (Al_2O_3). Весовая концентрация (ω) наночастиц в реакционной среде составляла 1%. Наночастицы имели квазисферическую форму. Средний диаметр НЧ составлял 37,9 нм для Al_2O_3 и 65,2 нм для FeO_x . Также в исследовании анализировались соответствующие образцы гидрогелей, не содержащие НЧ ($\omega = 0\%$). Синтез НЧ и композитов был выполнен в Институте электрофизики УрО РАН и на кафедре органической химии и высокомолекулярных соединений УрФУ.

Эхогенные свойства гелей изучались при помощи ультразвукового аппарата медицинского назначения UF-850 XTD (Fukuda Denshi, Япония). Образец геля помещали на дно кюветы, заполненной дистиллированной водой объемом 500 мл. Линейный ультразвуковой датчик погружали в воду и устанавливали на высоте 3 см над образцом геля по нормали к его поверхности. Параметры эхолокации составляли: рабочая частота 7,5 МГц, усиление 66 дБ.

Изображения образцов в «В-режиме» в шкале серого цвета передавались на компьютер, где в дальнейшем производилась их обработка. Измеряли яркость изображения, в соответствии со шкалой серого цвета, где максимальному значению яркости экрана соответствовало 255 условных единиц, а минимальному – 5. Определяли максимальную и среднюю яркость на границе раздела между верхней поверхностью образца геля и водой ($I_{\text{макс гр}}$ и $I_{\text{сред гр}}$). Для этого граница поверхности геля была разбита на квадраты размером 3×3 пикселя в каждом ($0,27 \text{ мм} \times 0,27 \text{ мм}$). Для определения максимальной яркости регистрировался самый яркий пиксель в каждом квадрате. Для определения средней яркости в каждом квадрате рассчитывалась средняя яркость пикселей. Внутри геля тоже определяли максимальную и среднюю яркость ($I_{\text{макс вн}}$ и $I_{\text{сред вн}}$), а также среднее квадратичное отклонение яркости ($I_{\text{ско вн}}$). Оценка яркости внутри геля проводилась на глубине около 2 мм от границы раздела геля/вода в квадрате 10×10 пикселей ($0,9 \text{ мм} \times 0,9 \text{ мм}$).

Было исследовано по 5 образцов каждого типа геля, всего 30 штук. Число измерений параметров яркости для каждого типа геля составляло не менее 20. Значения яркости представлялись с учетом границ доверительного интервала при уровне значимости $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 приведены типичные примеры ультразвуковой (уз) визуализации исследуемых образцов гидрогелей, а в таблице 1 представлены результаты измерения яркости уз-изображения.

На рис. 1А и 1Г изображены гидрогели, не содержащие НЧ. Можно увидеть границу раздела между гидрогелем и окружающей водой (фоном). Значения яркости изображения этой границы для гидрогеля на основе ПАА в два раза выше, по сравнению с гелем на основе CaAlg. Максимальная яркость для гидрогеля ПАА достигает значения 115, а для геля CaAlg только 54. Внутреннее содержимое обоих типов гидрогелей без НЧ практически не демонстрирует эхогенные свойства. Яркость внутри полностью совпадает с яркостью окружающего фона, которым является вода в кювете ($I_{\text{макс фон}} = 9$, $I_{\text{сред фон}} = 9$, $I_{\text{ско фон}} = 0,5$).

При добавлении в гидрогель на основе ПАА наночастиц в весовой концентрации 1%, происходит резкое увеличение яркости на границе геля/вода (рис. 1Б и 1В). Максимальная яркость на границе увеличивается на 75 единиц и достигает значений 189 и 190 для гелей ПАА/ FeO_x и ПАА/ Al_2O_3 , соответственно. Яркость на границе у композиционного геля на основе CaAlg тоже увеличивается в среднем на 70 и достигает значений 119 и 122 для гелей CaAlg/ FeO_x и CaAlg/ Al_2O_3 , соответственно. Визуально (рис. 1Д и 1Е), граница геля/вода менее четкая и яркая, чем для образцов на основе ПАА. Однако статистических различий между яркостью на границе для гелей с одинаковым составом полимерной сетки, но с разным типом

наночастиц, не было установлено. Другими словами, эхогенность образцов на границе гель/вода с одинаковой структурой полимерной сетки не зависела от природы наночастиц.

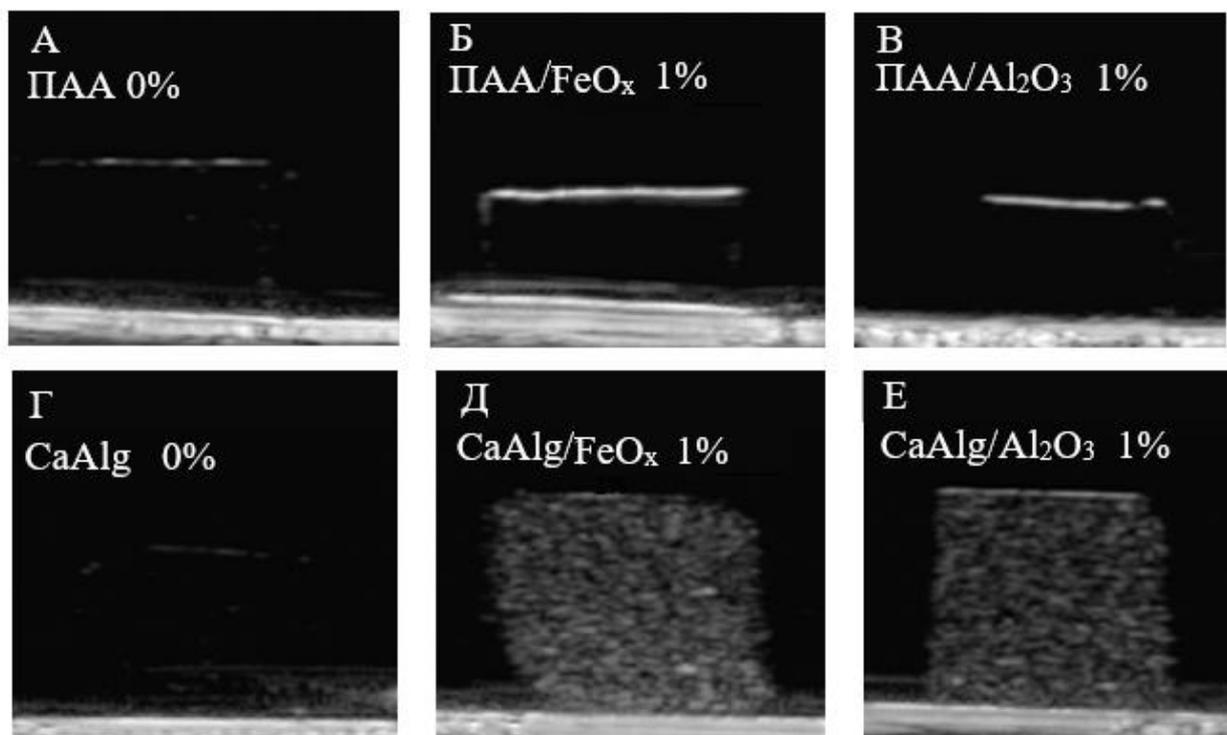


Рис. 1. Ультразвуковое изображение исследуемых образцов гидрогелей. Пояснения в тексте

Таблица 1.

Яркость уз-изображения исследуемых образцов гелей

образец геля	ω , %	$I_{\text{макс гр}}$	$I_{\text{сред гр}}$	$I_{\text{макс вн}}$	$I_{\text{сред вн}}$	$I_{\text{ско вн}}$
ПАА	0	115 ± 5	95 ± 5	10 ± 1	9 ± 1	$0,5 \pm 0,1$
ПАА/ FeO_x	1	189 ± 4	163 ± 4	9 ± 1	9 ± 1	$0,5 \pm 0,1$
ПАА/ Al_2O_3	1	190 ± 3	173 ± 3	11 ± 1	9 ± 1	$0,8 \pm 0,1$
CaAlg	0	54 ± 5	44 ± 5	8 ± 1	7 ± 1	$1,0 \pm 0,1$
CaAlg/ FeO_x	1	119 ± 2	100 ± 2	77 ± 11	49 ± 7	14 ± 3
CaAlg/ Al_2O_3	1	122 ± 2	103 ± 1	75 ± 10	44 ± 6	13 ± 2

Примечание: значения яркости представлены с учетом границ доверительных интервалов при уровне значимости $p = 0,05$

Если рассматривать уз-изображение внутри композиционных гидрогелей, то добавление наночастиц в весовой концентрации 1% не изменило визуальную картину для образцов на основе ПАА (рис. 1Б и 1В). На это также указывают результаты измерения яркости, значение которой было примерно одинаковым вне зависимости от добавления и природы НЧ. Напротив, уз-изображение внутри гелей на основе CaAlg при наличии наночастиц в концентрации 1% наоборот демонстрирует ярко выраженную эхогенность (рис. 1Д и 1Е). Максимальное значение яркости внутри достигает значений 77 и 75 единиц, усредненное значение яркости равно 49 и 44 для гелей CaAlg/ FeO_x и CaAlg/ Al_2O_3 , соответственно. Внутренняя структура выглядит неоднородно и зернисто. Зернистость структуры можно оценить по значениям среднего квадратичного отклонения яркости, которые равны соответственно 14 и 13. Как можно видеть, статистическая разница в значениях яркости изображения в зависимости от типа наночастиц отсутствует.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в работе результаты, в целом, показывают успешную визуализацию образцов композитных гидрогелей на основе ПАА и CaAlg с наночастицами оксидов металлов FeO_x и Al_2O_3 в весовой концентрации 1%. Так, в гидрогелях без НЧ хорошо визуализируется граница раздела сред, что говорит о наличии разности акустических импедансов между гидрогелем и водой. Внутри геля ультразвуковой сигнал свободно проходит через материал и

уз-изображение по яркости не отличается от фона (вода). Такая эхопрозрачность связана с однородностью материала гидрогеля.

Добавление наночастиц в полимерную сеть образцов значимо увеличивало в два раза интенсивность эхо-сигнала на границе гель/вода. Данный феномен связан с влиянием НЧ на упругие свойства гидрогелей, в частности, с увеличением модуля Юнга материала. Этот факт был продемонстрирован нами в ранних исследованиях [4, 5].

Наиболее важный результат, на наш взгляд, состоит в том, что внутреннее содержимое композитного геля (ПАА + НЧ) не визуализировалось, в то время как композит CaAlg + НЧ приобретал четко выраженную эхогенность. Причем, установленный эффект не зависел от природы НЧ. Очевидно, что полученный факт не связан с влиянием непосредственно НЧ на эхогенность, поскольку размер частиц много меньше пространственного разрешения ультразвукового датчика (~200 мкм). Следовательно, возникновение эхогенности внутри образцов могло быть следствием агрегации НЧ в структуре полимерной сетки.

Таким образом, отсутствие эхогенности внутри полиакриламидного нанокompозита и возникновение таковой в альгинатном нанокompозите может быть связано с различной природой полимерной сетки гидрогеля, которая определяется деталями синтеза материала. В частности, формирование сетки альгинатного геля, в отличие от полиакриламидного, происходит в водном растворе с большим количеством низкомолекулярных ионов [6].

При синтезе нанокompозитных гелей, когда вместо водного раствора используют электростатически стабилизированную суспензию наночастиц, наряду с образованием сетки альгината кальция, происходит коагуляции суспензии из-за высокой концентрации ионов. При этом агрегированные наночастицы не выпадают в осадок, поскольку фиксируются полимерной сеткой. Зоны с агрегатами из НЧ создают локальные изменения акустического импеданса внутри геля. Разность акустических импедансов является причиной возникновения эхосигнала внутри геля.

В случае композитных гелей на основе полиакриламида [4] синтез происходит без добавления солей, суспензия сохраняет свою стабильность, коагуляция не происходит и эхосигнал от внутренней области геля не регистрируется.

ВЫВОДЫ

В работе было показано, что наличие наночастиц FeO_x и Al_2O_3 в весовой концентрации 1% в композитных гелях на основе химической сетки из ПАА и физической сетки на основе CaAlg увеличивает яркость уз-изображения на границе гель/вода в два раза по сравнению с гидрогелем без НЧ. При этом в композитных гелях с физической сеткой внутреннее содержимое приобретает четко выраженную эхогенность, что может являться следствием агрегирования НЧ в процессе синтеза. В композитных гелях с химической сеткой, наоборот, уз-изображения содержимого образцов демонстрируют отсутствие эхогенности, аналогично гидрогелю без НЧ, поскольку агрегирования НЧ не происходит.

Влияние типа наночастиц в весовой концентрации 1% на эхогенные свойства гидрогелей не обнаружено. Данный результат имеет принципиальное значение, поскольку НЧ имеют различную магнитную природу. Частицы оксида железа относятся к разряду ферромагнетиков, в то время как НЧ оксида алюминия обладают парамагнитными свойствами. Следовательно, возможные магнитные взаимодействия между НЧ не оказывают влияние на их агрегацию в полимерной сетке.

В целом можно отметить, что применение стандартного ультразвукового исследования позволяет успешно визуализировать образцы композитных гидрогелей с химической и физической полимерной сеткой, наполненных наночастицами оксидов железа и алюминия.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Polyacrylamide/Alginate double network tough hydrogels for intraoral ultrasound imaging / J. Yi, K.C.T. Nguyen, W. Wang [et al.] // Journal of colloid and interface science. – 2020. – Vol. 578. – P. 598–607.
2. Polyacrylamide ferrogels with embedded maghemite nanoparticles for biomedical engineering / F.A. Blyakhman, A.P. Safronov, A.Y. Zubarev [et al.] // Results in physics. – 2017. – Vol. 7. – P. 3624–3633.
3. Biomedical applications of aluminium oxide nanoparticles / P. Hassanpour, Y. Panahi, A. Ebrahimi-Kalan [et al.] // Micro & Nano Letters. – 2018. – Vol. 13, № 9 – P. 1227–1231.

4. Ferrogels ultrasonography for biomedical applications / F.A. Blyakhman, S.Y. Sokolov, A.P. Safronov [et al.] // Sensors. – 2019. – Vol. 19, № 18. – P. 3959.
5. Echogenic advantages of ferrogels filled with magnetic sub-microparticles / O.A. Dinislamova, A.V. Bugayova, T.F. Shklyar [et al.] // Bioengineering. – 2021. – Vol. 8, № 10. – P. 140.
6. Design of spherical gel-based magnetic composites: synthesis and characterization / P.A. Shabadrov, A.P. Safronov, N.M. Kurilova, F.A. Blyakhman // Journal of Composites Science. – 2023. – Vol. 7, № 5. – P. 177.

Сведения об авторах

О.А. Динисламова* – старший преподаватель
А.В. Бугаёва – ассистент
Н.М. Курилова – аспирант
Т.Ф. Шкляр – доктор биологических наук, доцент

Information about the authors

O.A. Dinislamova* – Senior Lecturer
A.V. Bugayova – Department Assistant
N.M. Kurilova – Postgraduate student
T.F. Shklyar – Doctor of Sciences (Biology), Associate Professor

***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

ODinislamova@gmail.com

УДК: 620.3

ОСОБЕННОСТИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ БИОСОВМЕСТИМЫХ МИКРОСФЕР p-НЕМА С ПОМОЩЬЮ ЭХОЛОКАЦИИ

Динисламова Ольга Алексеевна¹, Шабадров Павел Андреевич^{1,2}, Бугаёва Антонина Владимировна¹, Бляхман Феликс Абрамович^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Гидрогели на основе поли-2-гидроксиэтилметакрилата (p-НЕМА) используются для нужд заместительной терапии и регенеративной медицины. Микросферы p-НЕМА рассматриваются в качестве транспортных систем для адресной доставки лекарственных субстанций. Использование таких систем на практике требует надежного контроля за миграцией микросфер в биологических тканях. Потенциально, ультразвуковая локация объектов в организме человека может быть применена для обнаружения микросфер и мониторинга их поведения в биологических средах. **Цель исследования** – оценить акустические свойства микросфер p-НЕМА по интенсивности отраженного от них эхосигнала (яркости). **Материал и методы.** Объектами исследования служили полимерные микросферы на основе p-НЕМА диаметром от 130 до 220 мкм. Визуализация микросфер осуществлялась с помощью ультразвукового аппарата медицинского назначения UF-850 XTD (Япония) на частоте 7,5 МГц. Эхогенные свойства оценивались по максимальной яркости ультразвукового изображения каждой микросферы в соответствии со шкалой серого цвета, где максимальному значению яркости экрана соответствовало 255 единиц, а минимальному – 5. **Результаты.** Микросферы p-НЕМА продемонстрировали высокую эхогенность. Яркость изображения микросфер варьировалась от 25 до 180 единиц. Среднее значение составило 76 единиц, медианное – 75, а мода – 79 (n = 500). **Выводы.** Регистрируемый эхосигнал от микросфер является преимущественно следствием диффузионного рассеяния ультразвуковых волн на микросферах. Этим можно объяснить вариацию яркости от размеров микросфер. В целом, полученный результат показал пригодность использования ультразвука медицинского назначения для надежной визуализации микросфер p-НЕМА.

Ключевые слова: гидрогель, p-НЕМА, микросферы, эхогенность, биомедицинские приложения.

FEATURES OF VISUALIZATION OF BIOCOMPATIBLE p-HEMA MICROSPHERES USING ECHOLOCATION

Dinislamova Olga Alekseevna¹, Shabadrov Pavel Andreevich^{1,2}, Bugayova Antonina Vladimirovna¹, Blyakhman Felix Abramovich^{1,2}

¹Ural State Medical University

²Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin

Yekaterinburg, Russia

Abstract