

OZVUČOVACÍ KOMŮRKA PRO IN VITRO EXPERIMENTY

M. Sněhota, M. Kolaříková, J. Vachutka, B. Hošíková, H. Kolářová

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

Úvod

Profil ultrazvukového pole, kterému jsou ozvučované vzorky během *in vitro* experimentů vystaveny je ovlivněn celou řadou faktorů [1], jako je například vznik stojatého vlnění či interference ultrazvukového vlnění s ozvučovací komůrkou [2]. Cílem této práce bylo zkonstruovat ozvučovací komůrku, v níž by byl vliv těchto faktorů minimalizován.

Materiál a metody

Měření ultrazvukového pole bylo prováděno v ozvučovací vaně naplněné destilovanou vodou. Struktura pole fyzioterapeutického přístroje BTL-4000 Premium byla určena pomocí jehlového hydrofonu měřením distribuce ultrazvukové energie v jednotlivých bodech příslušného skenu. Optimální rozměry komůrky byly stanoveny pomocí měření ultrazvukového pole uvnitř a za testovacími objekty o různých rozměrech vytištěnými na 3D tiskárně. Testovací objekty byly umísťovány do bodu posledního maxima. Pro konstrukci akustického okna komůrky byla zvolena silikonová membrána HT-6240, jejíž útlum ultrazvukové energie byl rovněž měřen pomocí jehlového hydrofonu v ozvučovací vaně. Pro konstrukci kostry ozvučovací komůrky byla použita 3D tiskárna. Míra cytotoxicity materiálů pro 3D tisk byla určena pomocí MTT testu. Možnost kultivace buněk na silikonové membráně byla ověřena pomocí světelné mikroskopie.

Výsledky

Optimální rozměry komůrky byly stanoveny na průměr 8 mm a délku 2,5 mm pro 1 MHz a průměr 4 mm a délku 2,5 mm pro 3 MHz. Variabilita lokální akustické intenzity uvnitř komůrky se pohybovala v rozmezí 50 – 150 % hodnot referenčního skenu provedeného ve volném poli. Změna rozměrů komůrky (zmenšení průměru či její prodloužení) může vést ke změně lokální akustické intenzity o více než 1000 % v porovnání s referenčním měřením. Komůrka umožňuje uzavření ozvučovaného vzorku a ponoření do ozvučovací vany. K potlačení stojatého vlnění lze nad komůrku umístit ultrazvukový absorbér. MTT testy prokázaly, že jak materiál pro 3D tisk (PLA = polylactic acid), tak silikonová membrána nejsou cytotoxické. Životnost buněk v komůrce však byla v porovnání s komerčními kultivačními deskami snižena, což je dáno sníženou adherencí buněk k membráně. Došlo tak k ovlivnění výsledků MTT testu. Adherenci buněk však lze zvýšit potažením membrány například poly-L-lysinem. Adherované buňky byly rovněž vizualizovány pomocí světelné mikroskopie.

Závěr

Výše uvedený postup umožňuje těsnou kontrolu parametrů ultrazvukového pole, kterému jsou ozvučované vzorky vystaveny. V porovnání s ostatními ozvučovacími schématy (využívající například stojatého vlnění) však pro vyvolání požadovaných biologických efektů může být potřeba přenastavit parametry ultrazvukového přístroje.

Tato práce byla podpořena grantovým projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant nr. NU21-J-03-00062. Všechna práva vyhrazena.

Literatura

- [1] Sněhota, M., Vachutka, J., Ter Haar, G., Dolezal, L., & Kolarova, H. (2020). Therapeutic ultrasound experiments in vitro: Review of factors influencing outcomes and reproducibility. *Ultrasonics*, 107, 106167.
- [2] Sněhota, M., Vachutka, J., Dolezal, L., Balazova, K., Trneckova, M., & Kolarova, H. (2021). Far field during sonication experiments in vitro—Is it really far enough?. *Ultrasonics*, 115, 106461.