

УДК 616-079

РАЗРАБОТКА МИКРОИГОЛЬНЫХ АППЛИКАТОРОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

¹Романюк А.В., ²Звездин В.Н., ¹Самант П., ³Землянова М.А.,
¹Праунитц М.Р., ⁴Устинова О.Ю.

¹Школа химической и биомолекулярной инженерии, Технологический институт
Джорджии, Атланта, США, e-mail: andrey.romanyuk@chbe.gatech.edu;

²ООО «Инновация», Пермь, e-mail: zvezdin@fcrisk.ru;

³ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
Пермь, e-mail: zem@fcrisk.ru;

⁴ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
Пермь, e-mail: Ustinova@fcrisk.ru

Новое поколение высокочувствительных диагностических приборов способно проводить анализ содержания большинства биомаркеров и метаболитов в организме человека, используя микролитровые объемы биологических сред. Это может быть как кровь, так и кожная межтканевая жидкость (МТЖ). Для отбора МТЖ нами сконструированы и проанализированы различные виды микроигольных аппликаторов (МИА). Основным способом их производства был адаптированный метод микроштамповки. Установлено, что введение в кожу МИА с высотой игл не более 600 микрон практически безболезненно для человека. МИА на основе полых металлических или стеклянных микроигл обладали прекрасными механическими свойствами, надежно проникали через кератиновый слой кожи, но не могли эффективно отбирать МТЖ. Наложение на них дополнительных вакуумных конструкций делало такую систему отбора громоздкой. Учитывая способность МТЖ диффундировать в полимерные структуры, были созданы растворимые и нерастворимые полимерные МИА. Растворимые МИА, содержащие карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ), сорбировали МТЖ на поверхности аппликатора, но этот процесс проходил крайне медленно. Нерастворимые полимерные МИА, состоящие из полимерного сшитого гидрогеля, обладали значительно более высокими темпами насыщения жидкости. Для создания структурной основы гидрогеля использовался полиэтилен гликоль диакрилат (ПЭГДА) или смесь полиэтилен гликоля (ПЭГ) и полиметилвинилового эфира малеинового ангидрида (ПМВЭ/МА). Кросслинки полимеров проводили за счет реакций фото- или термочувствительности. Условия формирования МИА и метода микроштамповки оптимизированы.

Ключевые слова: клиническая диагностика, микроштамповка, микроигольные аппликаторы, кроссполимеризованные гидрогели

DEVELOPMENT OF MICRONEEDLES FOR BIOMEDICAL DIAGNOSTICS

¹Romanyuk A.V., ²Zvesdin V.N., ¹Samant P., ³Zemlyanova M.A.,
¹Prasnitz M.R., ⁴Ustinova O.Y.

¹School of Chemical and Biomolecular Engineering, Georgia Institute of Technology,
e-mail: andrey.romanyuk@chbe.gatech.edu;

²Innovation Ltd., Perm, e-mail: zvezdin@fcrisk.ru;

³Perm State University, Perm, e-mail: zem@fcrisk.ru;

⁴FBSI «Federal Scientific for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies»,
Perm, e-mail: Ustinova@fcrisk.ru

To analyze biomarkers or metabolic compounds in the human body, modern analytical devices require just microliters of biological samples. They can be blood or possibly interstitial fluid (ISF) extracted from skin. Skin has very efficient capillary systems and as a result of this, biochemical composition of ISF can reflect concentrations of many of those compounds at the blood stream. Using micro molding techniques we constructed several kinds of microneedles applicators (MNA) to extract ISF from skin. Hollow silicon or glass microneedles have been shown to be able to extract ISF from the skin. However due to high cost of manufacturing and complexity of operation of hollow microneedles, we propose use of solid polymeric insoluble or dissolving microneedles to extract ISF from the skin. Dissolving microneedles were made from a water – soluble polymer and hence are capable of exerting a high osmotic force on the ISF. Low viscosity carboxymethyl cellulose (CMC) has been used to formulate the MNA. This osmotic force drives the ISF through the dissolving needles and into the backing of the device. However that fluid driving process can be slow, taking hours. To speed up sample collection, a solid insoluble cross-linked polymeric hydrogels MNA has been constructed. Two combinations of hydrophilic polymers have been used. For the first one, it was just polyethylene glycol diacrylate (PEGDA) cross-linked with UV initiated catalysis. Those MNA had good shape but were not able to penetrate skin reliably. To increase hardness rigidity of the hydrogel PEG was mixed with poly (methyl vinyl) ether/maleic anhydride (PMVE/MA) at proportion 1:2 (w/w). The gel was cross-linked by thermo catalysis. These MNA were strong enough to penetrate skin reliably. When the MNA was immersed in saline it was able to collect saline up to 167% of its weight in 20 min. These studies show the possibility of using microneedles to collect ISF for biomedical diagnostics.

Keywords: clinical diagnostics, micro molding, micro needles, cross-linked hydrogels

Новое поколение аналитических приборов, обладающих сверхвысокой чувствительностью и производительностью, сместило соотношение временных затрат в медицинской диагностике со стадии непосредственного анализа на стадию сбора, перемещения и подготовки биологических проб. Если с небольшим количеством пациентов и при достаточном количестве подготовленных медицинских работников не возникает серьезных нареканий к традиционным, рутинным методам забора образцов биологических сред, то с увеличением числа обследуемых система детекции быстро достигает своего операционного предела. Особенно это заметно в периоды эпидемий, природных и техногенных катастроф, при масштабном скрининге больших популяций на предмет выявления маркеров инфекционных болезней или токсических веществ.

Вопрос оптимизации и упрощения методов отбора биологических образцов стоит крайне остро и из-за высокого уровня вторичных инфекций, полученных в результате повторного использования или случайного накалывания на неправильно утилизируемые иглы. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире ежегодно более трех миллионов медработников получают производственные травмы при использовании металлических игл от шприцов. При этом 327,000 человек травмируются иглами, инфицированными вирусом иммунодефицита, 2,100,000 – вирусом гепатита В и 926,000 – вирусом гепатита С, что приводит к заболеванию СПИДом 1000 человек, гепатитом В – 66,000 человек и гепатитом С – 16,000 человек [12].

Классическая система забора крови с использованием иглолок или ланцетов болезненна и является негативным психологическим фактором для пациентов, особенно если пациент вынужден отбирать кровь несколько раз в день на протяжении длительного промежутка времени, а порой и всей жизни (сахарный диабет). При использовании данной системы происходит забор значительно большего объема крови, чем требуется для анализа, так например, система иммунодетекции «SIMOA» проводит анализ флюоресценции в лунках объемом несколько фемтолитров и способна детектировать фемто-отгомольярные концентрации биомаркеров [13]. Учитывая незначительные объемы вещества, необходимые для современной клинической диагностики, альтернативой крови может быть подкожная межтканевая жидкость [9]. Состав МТЖ из-за разветвленности подкожной капиллярной сети идентичен набору биомаркеров и метаболитов в крови [14],

а некоторые компоненты, такие как соли тяжелых металлов, способны откладываться в подкожном слое.

Широкомасштабный отбор МТЖ можно проводить с помощью микроигльных аппликаторов (МИА) [8, 15]. МИА, имея высоту иглолок не более 600 мкм, проникают сквозь кератиновый слой кожи и входят в эпидермис, поверхностный слой живых клеток, в котором нет нервных окончаний, поэтому их введение является безболезненным [5]. Также использование МИА безопасно, поскольку именно в эпидермисе находятся важнейшие элементы иммунной системы человека, клетки Лангерганца, и вероятность проникновения инфекции значительно меньше, чем при обычной подкожной инъекции, когда игла проникает глубже этого защитного слоя [3, 11]. Таким образом, введение в кожу МИА не требует специальной медицинской подготовки, что делает их особенно востребованными для систем самодетекции и широкомасштабного скрининга.

Конструирование МИА является непростой инженерной задачей и требует привлечения большого количества методов микропроизводства и химической инженерии [6, 10]. Создавая МИА, следует учитывать изменение свойств материалов и полимеров в микроразмерном состоянии, а также необходимость жесткого отбора материалов и компонентов на биосовместимость, что значительно сокращает их выбор.

Методами наклонной ультрафиолетовой литографии, микроштамповки и кислотного травления нами были созданы МИА с полыми металлическими иглами [2] (рис. 2, а). Они прекрасно проникали через кератиновый слой кожи, но частично забивались фрагментами ткани. Чтобы ускорить процесс и увеличить объем отбираемой МТЖ, на МИА накладывались дополнительные вакуумные аппликаторы, которые давали желаемый эффект, но делали всю систему отбора громоздкой и мало производительной.

Помимо вакуумного отбора через полые МИА можно использовать процесс диффузии МТЖ в полимерные иглы. Методом микроштамповки нами были созданы твердые растворимые микроиглы на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) [7] (рис. 2, б). Данные микроиглы правильной пирамидальной формы обладают достаточной жесткостью и упругостью, чтобы надежно, с вероятностью 100% проникать через кератиновый слой свиной кожи и входить в эпидермис (рис. 3, с, d). Через 3 секунды после введения на концах микроигл отмечается растворение КМЦ [7], но процесс всасывания жидкости идет медленно.

Группа японских исследователей, создавая систему малоинвазивной детекции глюкозы в МТЖ, применила последовательно прокалывание кожи нерастворимыми пластиковыми МИА с последующим наложением на это место гидрогеля, обеспечивающего адсорбцию вытекающей МТЖ [14]. Метод показал корреляцию уровня глюкозы, измеренной в крови, с ее уровнем в отобранной МТЖ.

Нами сконструирована система, позволяющая отбирать МТЖ не в два, а в один этап. МИА состояли целиком из кроссполимеризованного гидрогеля, полимеров ПМЭ/МА и ПЭГ. Установлено, что данные МИА обладают достаточной жесткостью, чтобы проникнуть через кератиновый слой кожи, но при попадании в водную среду они начинают стремительно насыщать жидкость.

Материалы и методы исследования

Микроштамповка. Микроштампочные формы создавали методом фотолитографии и литья [10]. Пошаговая схема представлена на рис. 1. Материнскую мастер-форму создавали, используя эпоксиполимер SU-8 (SU-8 2025, Microchem). Выпуклые мастер-формы были сделаны из полидиметилсилоксана (ПДМС) (PDMS, Sylgard 184, Dow Corning). ПДМС структуры напыляли частицами золота, используя систему напыления (601 Sputtering System, CVC Product). Метод производства полых микроигл описан ранее [2].

МИА на основе КМЦ. Более подробно методика формирования растворимых микроигл описана Ли с соавторами [7]. Карбоксиметилцеллюлозу низкой вязкости (СМС, N360384, Aldrich) растворяли в деионизованной воде с добавлением 0,15% красителя сульфорадомина-Б. Нагревая раствор до 70°C, воду постепенно выпаривали до достижения КМЦ финальной концентрации в 20%. Она образовывала вязкий гидрогель. На 20 мин 300–400 мг данного раствора помещали в материнскую ПДМС-форму при отрицательном давлении в 4,1 бара, чтобы переместить раствор в полости микроигл. МИА высушивали 48 часов и вынимали из ПДМС формы. Перед наложением на кожу МИА взвешивали.

МИА на основе ПЭГ-диакрилата. К раствору, содержащему 10–20% вес/объем ПЭГ-диакрилата Мм 10 кДа (Sigma) в фосфатном буфере (рН7.4), добавляли катализатор Irgacure2959 (Ciba, 100 мг/мл в 100% спиртовом растворе) в конечной концентрации 30 мкл/мл [1]. Раствор помещали в материнскую форму и под вакуумом проводили её заполнение. Полимеризацию ПЭГ-диакрилата (ПЭГДА) осуществляли экспозицией длинноволновым ультрафиолетовым светом (365 нм, 10 мВт/см²) в течение 10 мин. После чего высушивали форму при комнатной температуре в течение 24 ч.

МИА на основе ПЭГ/PMVE/МА. Для получения гидрогеля с повышенной жесткостью МИА и структурированной (сохраняющей свою форму в гидратированном состоянии) головной частью использован ко-полимер поли (метилвинилового эфира и малеиновой кислоты) ПМВЭ/МК (Sigma) 1980 кДа и ПЭГ 10 кДа (Sigma) [4]. Заливка форм производилась по этапам, отображенным на рис. 1. Соотношение полимеров – 2:1 (15% ПМВЭ/МК и 7,5% PEG). После заполнения штамповочной формы кроссшивку ко-полимеров осу-

ществляли термokatализом при 80°C в течение 24 ч. Термокатализ проводили либо непосредственно сразу после заливки, либо после предварительного высушивания формы в течение 24 часов в вытяжном шкафу.

Аппликации МИА (*in vitro*). МИА накладывали посредством надавливания на него большим пальцем руки на свиную кожу с удаленным слоем подкожного жира, после чего МИА фиксировался на поверхности кожи липким пластырем (Blenderm, 3M). Анализ насыщения МИА подкожной жидкостью проводился на диффузионном аппарате – «Ячейка Франза» (PermeGear, Bethlehem). Кожа закреплялась между верхней и нижней камерами. Раствор фосфатного буфера в нижней камере обеспечивал гидратацию кожи. Толщина свиной кожи составила 1,5–2 мм, длина микроигл – 0,6 мм. Таким образом, насыщение микроигольных аппликаторов жидкостью происходило только из кожи. Вес МИА измеряли до наложения на кожу и после, через равные промежутки времени.

Результаты исследования и их обсуждение

Современные достижения в области микроштамповки обеспечили развитие экономически эффективного производства 3-Д микроструктур. Процесс микроштамповки (микромолдинга) включает производство мастер-структуры, изготовление форм для литья, литье и разделение [2, 10]. Мастер-структуры изготавливались методом ультрафиолетовой (УФ) литографии с использованием эпоксиполимера SU-8 для обеспечения негативной фоторезистентности (рис. 1)

Твердая SU-8 форма изготавливалась наклонной UV-литографией, позволяющей формировать отрицательно вогнутые структуры различной глубины (рис. 1, а) [10]. Глубина формы определялась размером маски и углом падения УФ-света. В областях, где SU-8 подвергался воздействию УФ света, происходило сшивание полимерного материала (рис. 1, а, отмечено темным), а области SU-8, закрытые маской и не подвергавшиеся воздействию, оставались несшитыми (рис. 1, а, показаны белым цветом). Несшитые части удалялись при помощи ПДМС (рис. 1, б). Для изготовления мастер-формы в качестве формовочного материала использовался ПДМС благодаря его механическим свойствам, обеспечивающим высокую точность копирования.

Для получения выпуклой мастер-формы раствор ПДМС вносили в полученную SU-8 форму (рис. 1, с). После высыхания и полимеризации слой ПДМС и SU-8 удалялись. Поверхность формы из ПДМС обрабатывали газом CHF_3/O_2 в режиме реактивного ионного травления, что обеспечивало формирование неактивного поверхностного слоя. Выпуклую мастер-форму использовали для изготовления литьевых форм. Для этого опять же использовался ПДМС из-за

его гибкости и низкой поверхностной энергии (рис. 1, d) [10].

Полимерные микроstructures отливаются из гибких форм посредством внесения требуемого полимера в пресс-форму (рис. 1, e). Далее

в этой форме микроstructures полимера либо затвердевают и высушиваются, либо подвергаются реакциям межполимерной сшивки. На последнем этапе сформированную структуру отделяют от ПДМС формы (рис. 1, b).

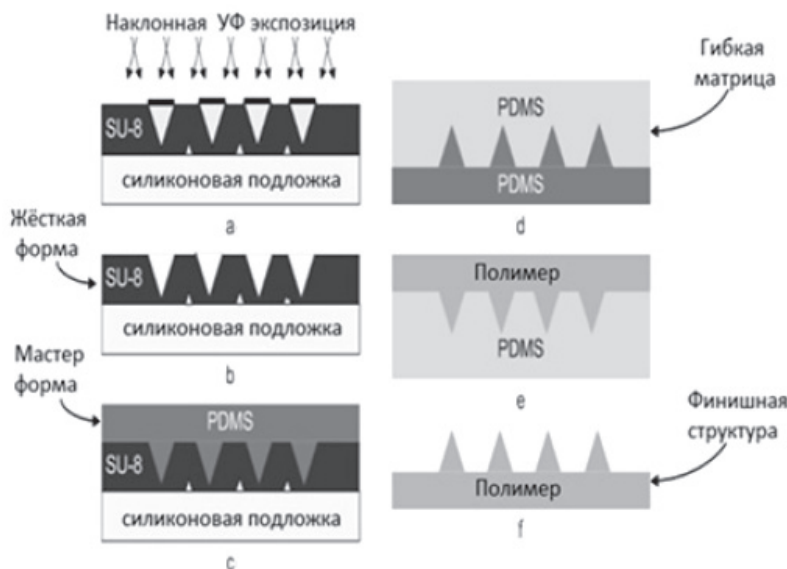


Рис. 1. Пошаговая схема изготовления пресс-форм ПДМС для создания 3-Д микроstructures: a – экспозиция УФ-светом экранированных (белый цвет) и неэкранированных (черный цвет) участков фоторезистентного эпоксиполимера SU-8; b – образование жесткой матрицы SU-8; c – штамповка жесткой мастер-формы на основе (жесткость матрицы достигается после её извлечения и напыления металлами); d – штамповка гибкой мастер-формы на основе ПДМС e – литьё полимерного компонента МИА в гибкую мастер-форму; f – извлечение финишной структуры МИА из гибкой формы. Гибкость формы обеспечивает сохранность финишной структуры в процессе их отделения

Альтернативный способ получения матричной формы: SU-8 форму покрывали титаном в качестве адгезирующего слоя и медью в качестве затравочного материала [2, 6]. Гальванизацией наносили никель, который образовывал выпуклую мастер-форму. Разделение никелевой выпуклой мастер-формы и SU-8 формы осуществляли путем

выборочного травления слоя меди. Использование металла обеспечивает длительный срок эксплуатации мастер-формы благодаря его механической прочности и высокой термостойкости. Металлические формы впоследствии использовали для создания гибких форм ПДМС или для формирования полых металлических МИ.

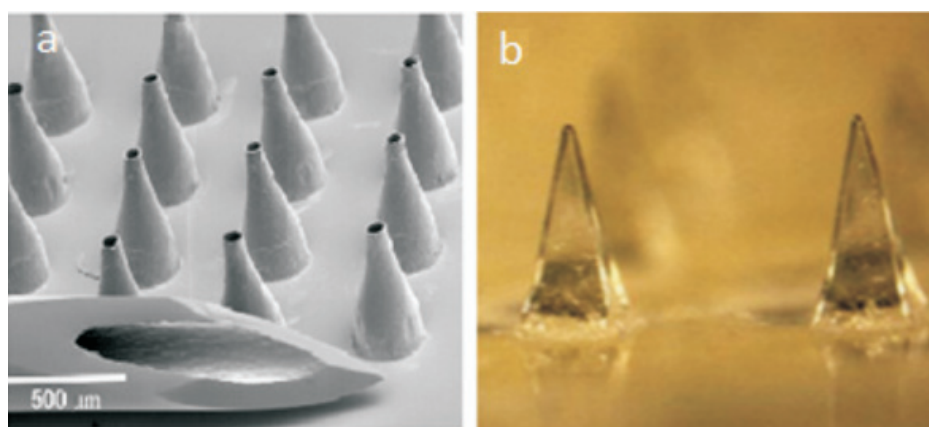


Рис. 2. МИА, полученные методом микрошамповки: a – полые металлические МИА (снимок воспроизводится из статьи [2]); b – твердые растворимые МИА на основе КМЦ (снимок воспроизводится из статьи [7])

Выбор ПДМС в качестве основы штамповочных форм определяется не только его механическими свойствами и точностью копирования микроформ, но и способностью пропускать газ. Поэтому любые случайные

нежелательные вкрапления воздуха, возникающие на границе вносимых гидрофильных полимеров и гидрофобной матрицы, могут быть легко удалены посредством воздействия вакуума или центрифугированием.

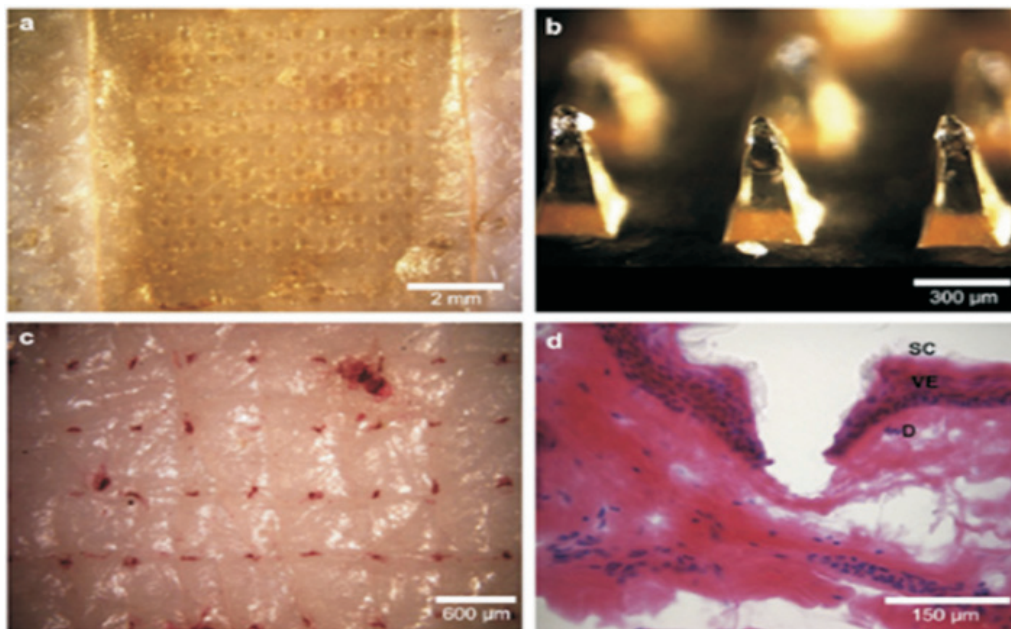


Рис. 3. МИА на основе КМЦ: а – МИА введен в кожу (вид сверху); б – МИА извлечён из кожи через 3 секунды после введения. На верхушках МИ отчетливо видно растворение полимерного матрикса; с – снимок кожи после извлечения МИА. Видны следы перфорирования кожи микроглами; d – гистологический срез кожи через участок перфорирования. Видно, что микрогла пробил кератиновый слой кожи (SC), вошла в слой живых клеток эпидермиса (VE) и достигла верхней границы дермиса (D). Снимки воспроизведены из ранней публикации [7]

Проанализирована динамика насыщения подкожной жидкостью МИА на основе КМЦ (рис. 4). Установлена линейная зависимость объемов насыщаемой жидкости от

времени наложения аппликатора. Учитывая низкую скорость насыщения жидкостью КМЦ МИА, проводилась разработка МИА на основе нерастворимого гидрогеля.

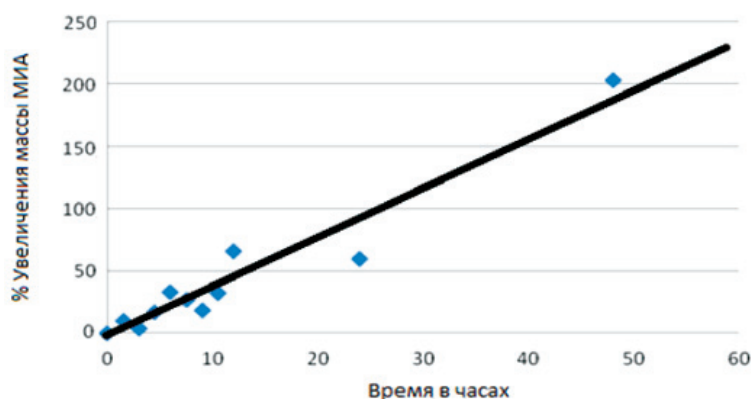


Рис. 4. Динамика изменения веса МИА на основе КМЦ после наложения на кожу in vitro (показана линейная зависимость насыщения жидкости из кожи от времени наложения)

В качестве полимерной основы гидрогеля выбран ПЭГДА, во-первых, из-за его биосовместимости, а во-вторых, из-за высокой

гидроскопичности. Высокомолекулярный полимер ПЭГДА вместе с фотоактивируемым катализатором реакции ковалентной

межмолекулярной сшивки вносили в гибкую форму и воздействовали вакуумом для обеспечения полного заполнения формы и удаления пузырьков воздуха. Затем форму экспонировали в длинноволновой УФ-области [1]. После высыхания кроссполимеризованного полимера его отделяли от формы.

Полученные МИ были правильной пирамидальной формы, но недостаточной жесткости для проникновения через кератиновый слой кожи. Для увеличения жесткости, к ПЭГ был добавлен сополимер – ПМВЭ/МА. Кроссшивки между полимерами возникали в результате термоинициации при температуре более 80 °С.

Для проведения катализа использованы два подхода. В первом случае внесенные в форму сополимеры помещались на 24 часа в термостат при 80 °С (рис. 4, а), а во втором случае полимерной смеси, находящейся в форме, давали возможность высохнуть 24 часа, а затем уже помещали в термостат

на 24 часа для прохождения этапа межполимерной кроссшивки (рис. 5, а). МИА, подвергшиеся кроссшивке без предварительного высушивания, в отличие от высушенных и кроссшитых аппликаторов содержали большие вкрапления газов. Поэтому в дальнейшем после заливки смеси сополимеров в микроформу им давали возможность высохнуть и подвергали этапу термоинициации-руемой межполимерной сшивки.

Образующиеся МИ были правильной пирамидальной формы (рис. 5, b, c), обладали достаточной жесткостью для проникновения в эпидермис с эффективностью, аналогичной иглам на основе КМЦ (рис. 3, c). При попадании в водную среду они стремительно адсорбировали жидкость (рис. 5, d, e, f). За 20 минут масса аппликатора увеличилась на 167%, а за 1 ч – на 450%. После набухания и высыхания МИ теряли свою заостренную форму и деформировались (рис. 5, g).

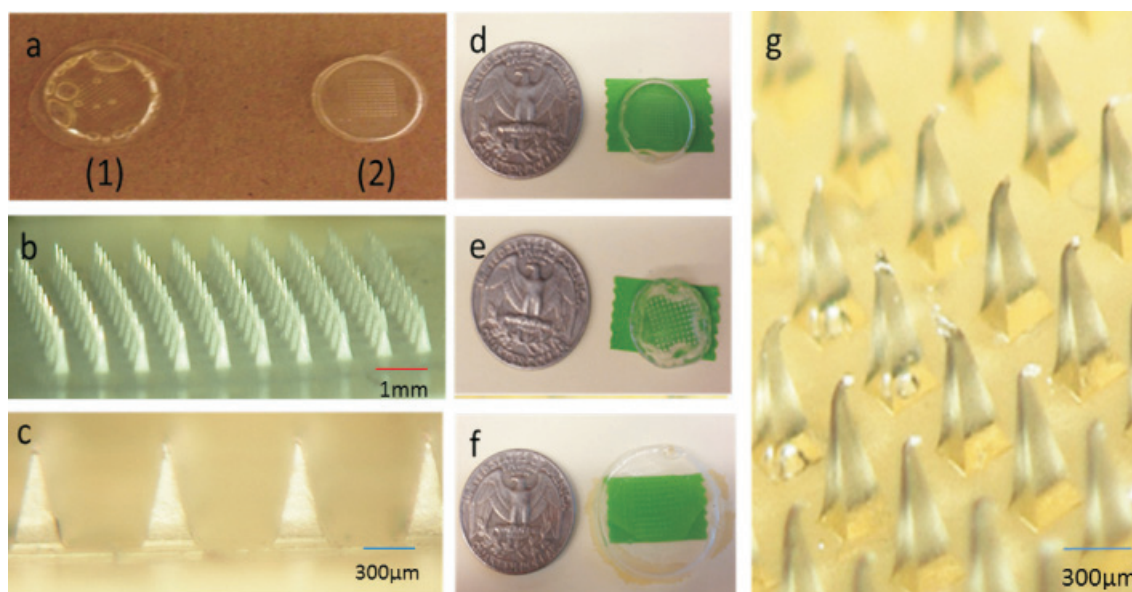


Рис. 5. Нерастворимые твердые МИА на основе кроссполимеризованного гидрогеля ПЭГ/ПМВЭ/МА:

a – внесенные в форму со-полимеры либо сразу помещались на 24 часа в термостат при 80 °С (1) либо полимерной смеси, находящейся в форме, давали возможность высохнуть 24 часа, а затем уже помещали в термостат на дополнительные 24 часа для прохождения этапа межполимерной кроссшивки (2). В первом варианте видны вкрапления пузырьков воздуха в структуру аппликатора; *b, c* – МИ имели строгую пирамидальную форму и были полностью идентичны между собой; *d-f* – МИА набухали в растворе разное время, после чего определялся их вес. (*d*) Первоначальный вес МИА был равен 132 мг; *e* – через 20 минут он составил 352 мг; *f* – а через один час – 712 мг; *g* – после высыхания МИ теряли свою форму и деформировались

На протяжении миллионов лет кожа представляла собой защитный барьер от внешних факторов и агентов. Одна из ее основных функций – сохранение гомеостаза организма и предотвращение чрезмерной

потери жидкости. Вопреки эволюционному процессу, мы хотим создать эффективную систему забора МТЖ. Созданные ранее металлические полые МИА были использованы для введения инсулина в эпидермис

[2]. Также методом контролируемого вытяжения были получены стеклянные микрокапилляры заостренной формы [6, 15]. При воздействии избыточного давления на металлические и стеклянные микроиглы происходило введение инсулина в эпидермис. Однако для отбора образцов МТЖ данные МИА не подходили. Это объясняется тем, что поляя структура МИ на этапе вхождения в кожу отчасти забивается как элементами кератинового слоя, так и эпидермиса. Избыточное давление способствует прохождению лекарственных препаратов через микроиглы и блокирующие элементы, использование вакуума хоть и ускоряет процесс отсасывания МТЖ, но и увеличивает загрязнение, делая всю систему громоздкой и малопродуктивной. Очевидно, что «агрессивные» методы отбора МТЖ не являются оптимальным решением проблемы.

Твердые растворимые МИА на основе КМЦ сорбировали МКЖ на поверхность аппликатора [7]. Механизм такой сорбции состоит в том, что, растворяясь, КМЦ создает локальную высокую концентрацию полимера и соответствующую ей осмотическую силу, которая перемещает МТЖ между структурами полимера в направлении увеличивающейся концентрации. Скорость процесса зависит от темпов растворения полимера (рис. 4). На начальных этапах отбора жидкости установлено быстрое ее поступление в наконечник иглы, после чего происходило растворение полимеров микроигл, что замедляло процесс отбора МТЖ (рис. 3, b).

Уменьшение времени отбора МТЖ возможно, если использовать для диагностики объем, поступивший только в сами МИ, без транспортировки на поверхность аппликатора, но в этом случае МИ должны быть пористыми, гидрофильными и нерастворимыми. Данным условиям отвечает полимерный кроссшитый гидрогель.

Наилучшую динамику сорбции жидкости показали структуры кроссшитого гидрогеля полимеров ПЭГ/ (ПМВЕ/МА) в соотношении один к двум. Впервые подобную комбинацию полимеров применил Донелли [4] для создания аппликатора доставки лекарств через кожу. В наших экспериментах масса гидрогеля увеличивалась в два с половиной раза за 20 минут иммерсии в жидкости. Стоит отметить, что непосредственно МИ имеют микронный размер и соотношение поверхность/объем у них на порядок выше, чем у всего МИА, поэтому и скорость сорбции жидкости в МИ должна быть значительно выше. Не исключено, что насыщение подкожной жидкостью только

микроигльной части МИА потребует лишь нескольких минут нахождения её в коже. Для уточнения этих данных необходимо провести детальное исследование.

Важно отметить, что после набухания и высыхания, МИА на основе гидрогеля нельзя использовать повторно, т.к. из-за неравномерного высыхания, МИ деформируются (рис. 5, g), в результате чего они теряют способность проникать в эпидермис и не могут использоваться повторно или стать источником производственных травм, как при использовании металлических игл.

Заключение

Несмотря на то, что растворимые полимерные МИА на основе КМЦ медленно насыщают МТЖ, возможно их усовершенствование при наполнении дополнительных компонентов и структур.

Сконструированные на основе кроссшитого гидрогеля МИА проникают через кератиновый слой кожи, активно адсорбируют жидкость, после высыхания не дают возможности использовать их повторно, безболезненны в применении и состоят из биосовместимых полимеров. Необходимо оценить скорость поступления высокомолекулярных веществ в структуру кроссшитого гидрогеля и возможные стерические ограничения такой диффузии.

Метод термोकатализируемой сшивки полимеров без дополнительных химических компонентов совместно с методом микроштамповки создают основу для промышленного копирования созданных МИА. Таким образом, МИА на основе кроссшитого гидрогеля могут быть использованы в биомедицинской диагностике как способ забора МТЖ.

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

Список литературы/References

1. Cuchiara M.P., Allen A.C., Chen T.M., Miller J.S., West J.L. Multilayer microfluidic PEGDA hydrogels // *Biomaterials*. – 2010. – Vol.31, № 21. – P. 5491–7.
2. Davis S.P., Martanto W., Allen M.G., Prausnitz M.R. Hollow metal microneedles for insulin delivery to diabetic rats // *IEEE Trans Biomed Eng.* – 2005. – Vol. 52, № 5 – P. 909–15.
3. Donnelly R.F., Singh T.R., Alkilani A.Z., McCrudden M.T., O'Neill S., O'Mahony C., Armstrong K., McLoone N., Kole P., Woolfson A.D. Hydrogel-forming microneedle arrays exhibit antimicrobial properties: potential for enhanced patient safety // *Int J Pharm.* – 2013. – Vol. 451, № 1–2 – P. 76–91.
4. Donnelly RF, Singh TR, Garland MJ, Migalska K, Majithiya R, McCrudden CM, Kole PL, Mahmood TM, McCarthy HO, Woolfson AD. Hydrogel-Forming Microneedle Arrays for Enhanced Transdermal Drug Delivery // *Adv Funct Mater.* – 2012. – Vol. 22, № 23. – P. 4879–4890.

5. Gill H.S., Denson D.D., Burris B.A., Prausnitz M.R. Effect of microneedle design on pain in human volunteers // *Clin J Pain*. – 2008. – Vol. 24, № 7 – P. 585–94.
6. Kim Y.C., Park J.H., Prausnitz M.R. Microneedles for drug and vaccine delivery // *Adv Drug Deliv Rev*. – 2012. – Vol. 64, № 14. – P. 1547–68.
7. Lee J.W., Park J.H., Prausnitz M.R., Dissolving microneedles for transdermal drug delivery // *Biomaterials* – 2008. – Vol. 29 – P. 2113–24.
8. Mukerjee E.V., Collins S.D., Isseroff R.R., Smith R.L. Microneedle array for transdermal biological fluid extraction and in situ analysis // *Sensors & Actuators*. – 2004. – Vol. 114 – P. 267–5.
9. Paliwal S., Hwang B.H., Tsai K.Y., Mitragotri S. Diagnostic opportunities based on skin biomarkers // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2013. – Vol. 50, № 5. – P. 546–556
10. Park J.H., Yoon Y.K., Choi S.O., Prausnitz M.R., Allen M.G. Tapered conical polymer microneedles fabricated using an integrated lens technique for transdermal drug delivery // *IEEE Trans Biomed Eng*. – 2007. – Vol. 54, № 5. – P. 903–13.
11. Pearton M., Kang S.M., Song J.M., Kim Y.C., Quan F.S., Anstey A., Ivory M., Prausnitz M.R., Compans R.W., Birchall J.C. Influenza virus-like particles coated onto microneedles can elicit stimulatory effects on Langerhans cells in human skin // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28, № 37. – P. 6104–13.
12. Prüss-Ustün A., Rappit E., Hutin Y. Estimation of the global burden of disease attributable to con-taminated sharps injuries among health-care workers // *Am J of Ind. Med*. – 2005. – Vol 48, № 6. – P. 482–490.
13. Rissin D.M., Kan W.C., Song L., Rivnak A.J., Fishburn M.W., Shao Q., Piech T., Ferrell E.P., Meyer R.E., Campbell T.G., Fournier D.R., Duffy D.C. Multiplexed single molecule immunoassays // *Lab Chip*. – 2013. – Vol. 13. – P. 2902–2911.
14. Sakaguchi K., Hirota Y., Hashimoto N., Ogawa W., Sato T., Okada S., Hagino K., Asakura Y., Kikkawa Y., Kojima J., Maekawa Y., Nakajima H. A minimally invasive system for glucose area under the curve measurement using interstitial fluid extraction technology: evaluation of the accuracy and usefulness with oral glucose tolerance tests in subjects with and without diabetes // *Diabetes Technol Ther*. – 2012. – Vol. 14, № 6 – P. 485–91.
15. Wang P.M., Cornwell M., Prausnitz M.R. Minimally Invasive Extraction of Dermal Interstitial Fluid for Glucose Monitoring Using Microneedles // *Diabetes Technology & Therapeutics*. – 2005. – Vol. 7, № 1. –P. 131–141.

Рецензенты:

Алексеев В.Б., д.м.н., врач высшей категории, заместитель директора по организационно-методической работе, ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь;

Уланова Т.С., д.б.н., профессор кафедры охраны окружающей среды, ГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», заведующий отделом химико-аналитических методов диагностики, ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 16.12.2013.