

# Obrazowanie fluorescencyjne w bioinżynierii

M. Naurecka<sup>1</sup>, B. Sierakowski<sup>1</sup>, W. Szulc<sup>1</sup>, M. Kwaśny<sup>1,2</sup>, M. Łapiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum Inżynierii Biomedycznej, Instytut Optoelektroniki, Wojskowa Akademia Techniczna, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Technologii Optoelektronicznych, Instytut Optoelektroniki, Wojskowa Akademia Techniczna, Warszawa  
e-mail: magdalena.naurecka@wat.edu.pl, bartosz.sierakowski@wat.edu.pl

## Wstęp

Obrazowanie fluorescencyjne służy do oceny stanu komórek i tkanek, lokalizacji endogennych i egzogennych fluorochromów. Źródłem endogennej fluorescencji w obszarze UV komórek i tkanek ludzkich są niektóre aminokwasy (tryptofan, tyrozyna i fenyloalanina). W tkankach twardych silne właściwości fluorescencyjne wykazuje główny składnik kości – hydroksyapatyt.

## Materiały i metody

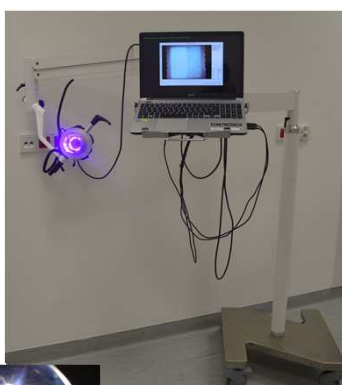
### Laserowy skaningowy system konfokalny LSM 700 z mikroskopem Zeiss Axio Observer.Z1

Posiada rozbudowany system oświetleniowy (lasery o długości fali 405nm, 488nm, 555nm, 639nm, panel Colibri z modułami wzbudzających diod LED 365nm, 470nm, 590nm, lampa halogenowa HAL 100, oświetlacz fluorescencyjny HXP 120 z lampą halidkową). Umożliwia on obserwację wewnątrzkomórkowych procesów w hodowlach komórkowych w czasie rzeczywistym (kamera monochromatyczna AxioCam MRc5) przy zadanej temperaturze, wilgotności i stężeniu CO<sub>2</sub> (komora inkubacyjna PeCon XLmulti S1), obrazowania fluorescencji preparatów biologicznych *in vitro*, analizy akumulacji fluorochromów.



Rys. 1. Laserowy skaningowy system konfokalny LSM 700.

**System QLF-D (ang. Quantitative Light-induced Fluorescence)** jest oparty na metodzie obrazowania fluorescencji przy wzbudzeniu promieniowaniem o długości fali 405 nm. Analiza zielonej fluorescencji umożliwia wykrycie ognisk próchnicznych i demineralizacji powierzchni zębów, natomiast czerwona pokazuje miejsce występowania bakterii i płytki nazębnej.

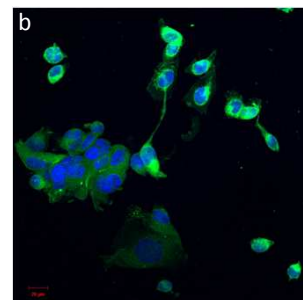
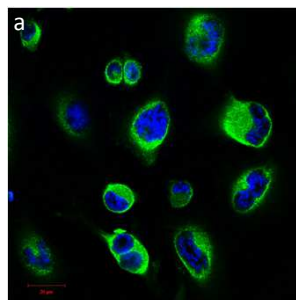


Rys. 3. QLF-D ze statywem do zastosowań medycznych.



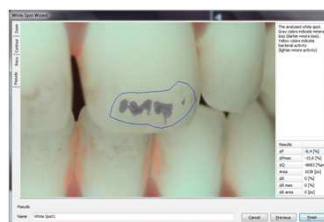
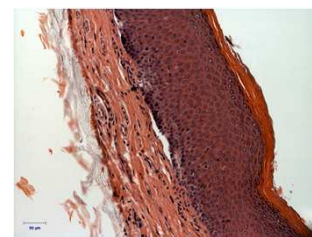
Rys. 2. Widok wewnętrznego oświetlenia QLF-D.

## Wyniki



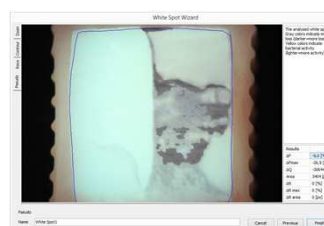
Rys. 4. Komórki RBE4 z czynnikiem TNF- $\alpha$ , powiększenie x40 (a) i x20 (b). Na niebiesko wybarwione jądra komórkowe, na zielono receptory błonowe von Willebrand (a) i Reca (b).

Rys.5. Wycinek z dna jamy ustnej, powiększenie x20; Kamera AxioCam MRc5.



Rys. 6. Zrzut z ekranu analizy typu *white spot*. Wykryte zmiany próchniczne oznaczone na czarno, płytka bakteryjna lub/i kamień nazębny na czerwono.

Rys. 7. Zdjęcie wykonane w świetle niebieskim – lekko zielony kolor zębów (fluorescencja). Na zaznaczonych obszarach zastosowano ceramiczne wypełnienie.



Rys. 8. Wyniki analizy *white spot* szkliwa wołowego - lewa strona szkliwa jest zdrowa (próba referencyjna), natomiast prawa została poddana demineralizacji przez 120h.

## Wnioski

Mikroskop konfokalny pozwala uzyskać obrazy o wyższej rozdzielczości i kontraście w porównaniu z mikroskopem fluorescencyjnym dzięki przesłonie konfokalnej, która odcina światło spoza płaszczyzny ogniskowania. Lasery 405nm, 488nm, 555nm, 639nm umożliwiają obrazowanie i analizę wszystkich fluorochromów znajdujących się w komórkach oraz tworzenie modeli 3D.

Centrum Inżynierii Biomedycznej WAT jako jedyne w Polsce posiada urządzenie QLF-D. Jest to innowacyjne rozwiązanie w skali światowej, ponieważ jest czulszy od odbiciowej metody oceny szkliwa i pozwala na przesiewowe badanie zębów w krótkim czasie.