

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Исследование просветления биологических тканей по люминесценции

ап-конверсионных наночастиц

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 254 группы

направления 03.04.02 «Физика»

физического факультета

Багиевой Эльвиры Рахибовны

Научный руководитель

д.ф.-м.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

В.И. Кочубей

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой

д.ф.-м.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание



подпись, дата

В.В. Тучин

инициалы, фамилия

Саратов 2017

Введение

Актуальность работы:

Такая относительно новая область научного интереса как наномедицина уже давно привлекает ученых своими возможностями [1]. Сопоставимость размеров наночастиц с размерами биологических макромолекул делает возможным их применение в биологических и медицинских приложениях. К тому же наночастицы в несколько тысяч раз более устойчивы к фотообесцвечиванию, чем органические красители. Уже существуют биосовместимые наноматериалы с уникальными свойствами, которые позволяют использовать их для доставки лекарственных препаратов в заданную область по кровотоку или путем диффузии, а также для визуализации их на глубине в биологической ткани [2,3].

По сравнению с другими квантовыми точками, ап-конверсионные наночастицы обладают стабильной узкополосной эмиссией при возбуждении в ближнем ИК диапазоне. При этом кванты люминесценции имеют более высокую энергию по сравнению с квантами возбуждающего излучения. Люминесценция биоткани в спектральной области люминесценции ап-конверсионных наночастиц отсутствует, что позволяет исключить фоновый сигнал от биоткани [4-6]. Ап-конверсионные наночастицы имеют малую токсичность, и могут быть применены при исследовании биообъектов [7,8].

Проникновение излучения в поглощающее-рассеивающий объект, которым является биоткань, невелико, и для области 950-1000 нм, в которой производится облучение, имеет величину порядка 2.5 мм. В результате возможна регистрация только близко расположенных к поверхности объектов. Усиление сигнала флуоресценции от наночастиц, проходящей через слой биоткани, возможно при помощи оптического просветления биотканей. Метод основан на выравнивании показателей преломления воздействующего иммерсионного агента и внутритканевой жидкости. Для уменьшения рассеяния света на поверхность наносится осмотически

активная иммерсионная жидкость. При этом происходит диффузия препарата в биоткань и вытеснение межклеточной жидкости из нее.

Необходимо рассмотреть оптическое просветление биотканей как *in vitro*, так и *in vivo*. *In vitro* исследования позволяют выявить характерные особенности оптического просветления данного вида биоткани, получить количественные характеристики, исключив влияние организма на процесс диффузии. При данных исследованиях можно использовать высококонцентрированные ОПА для достижения значительного эффекта.

Целью данной работы являлось исследование возможности регистрации и определения динамики просветления образцов мышечной ткани *in vitro*, по изменению люминесцентного сигнала от расположенных в глубине образцов ап-конверсионных наночастиц.

Задачи работы:

- 1) Регистрация изображений в процессе просветления мышечной ткани.
- 2) Анализ изображений и определение интегральной интенсивности.
- 3) Исследование динамики просветления мышечной ткани раствором глюкозы 40 %.
- 4) Определение коэффициентов диффузии.

Научная новизна работы:

Показана возможность определения коэффициентов диффузии просветляющих агентов в биологических тканях по люминесцентным изображениям внедренных в образец апконверсионных наночастиц.

Научная значимость работы

Примененный метод позволяет определять коэффициенты диффузии *in vivo*, что недостижимо при использовании других методов.

Структура и объем ВКР.

Магистерская выпускная квалификационная работа состоит из введения, трех разделов, заключения и списка литературы, состоящего из 74

наименований. Материалы работы изложены на 50 страницах, содержащих 23 рисунков, 2 таблицы.

Основная часть

В разделе 1 рассмотрены ап-конверсионные наночастицы, их свойства и применение, использование ап-конверсионных наночастиц для получения изображений структуры биологических объектов, представлены основные свойства и характеристики ап-конверсионных наночастиц.

В подразделе 1.1 описываются основные процессы ап-конверсионное передачи энергии.

Подраздел 1.2 посвящен основным преимуществам явления ап-конверсии в биологии, а так же бьяснению их причин.

Подраздел 1.3 посвящен истории развития ап-конверсионных наночастиц, их основным типам.

В подразделе 1.4 описываются варианты использования ап-конверсионных наночастиц для визуализации биологических объектов.

В разделе 2 описано: просветление биологических тканей осмотически активными жидкостями, диффузия просветляющего агента в образце вследствие осмотического явления, техника внедрения. Описана диффузия химических агентов в биотканях, просветление биотканей при диффузии иммерсионных агентов, основные закономерности просветления биологических тканей.

Подраздел 2.1 посвящен описанию целей просветления и сферам его использования.

В подразделе 2.2 описаны механизмы выравнивания показателей преломления рассеивателей и окружающей среды, для уменьшения рассеяния света в образце.

Подраздел 2.3 посвящен изучению диффузии просветляющего агента в образце. Представлены основные типы осмотических жидкостей, описана техника внедрения осмотически активной жидкости в биологическую ткань. Выведена основная формула для расчета коэффициентов диффузии глюкозы:

$$D = A_0 \cdot l^2 \quad (1)$$

где l - толщина образца, см, A_0 – показатель экспоненты.

Описаны примеры просветления образцов.

В разделе 3 описаны: установка для регистрации ап-конверсионных изображений, материалы и методы эксперимента. Приведены экспериментальные результаты и обсуждение полученных результатов; приведены экспериментальные данные; получены результаты исследования просветления биологической ткани

В подразделе 3.1 описана установка для регистрации ап-конверсионных наночастиц (рисунок 1).

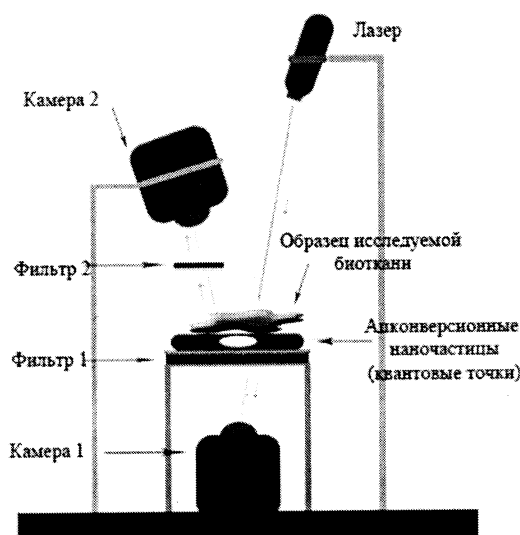


Рисунок 1 - Экспериментальная установка для регистрации люминесцентных изображений объектов.

Подраздел 3.2 посвящен описанию использованных типов образцов.

В подразделе 3.3 представлены изображения, регистрируемые в процессе просветления мышечной ткани (рисунки 2-5), а так графики зависимостей интенсивности от времени просветления (рисунки 6-9).

Эксперимент 28. ($Y_2O_3:Yb,Er^{3+}$) Изображения, полученные при помощи нижней камеры до просветления и после, показаны на рисунках 2,3.

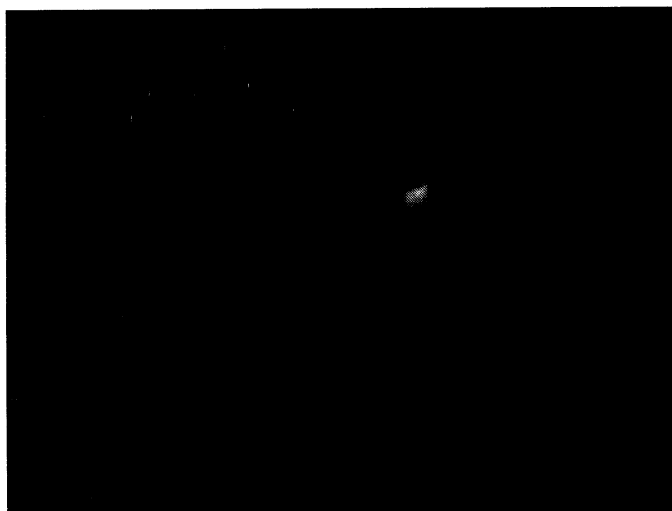


Рисунок 2 – Изображение, полученное нижней камерой до просветления (0мин.).



Рисунок 3 – Изображение, полученное нижней камерой после просветления (60мин.).

Изображения, полученные при помощи верхней камеры до просветления и после показаны на рисунках 4,5.



Рисунок 4 – Изображение, полученное верхней камерой до просветления
(0мин.).

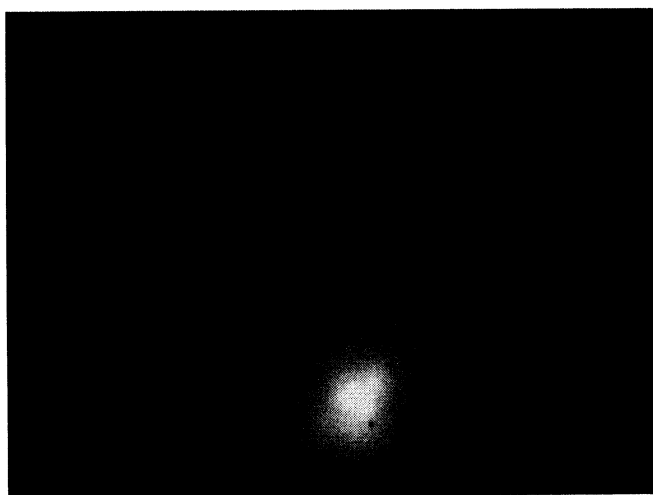


Рисунок 5 – Изображение, полученное верхней камерой после просветления
(60 мин.).

Зависимости интегральной интенсивности люминесценции (верхней и нижней камер) от времени просветления показаны на рисунках 6,7.

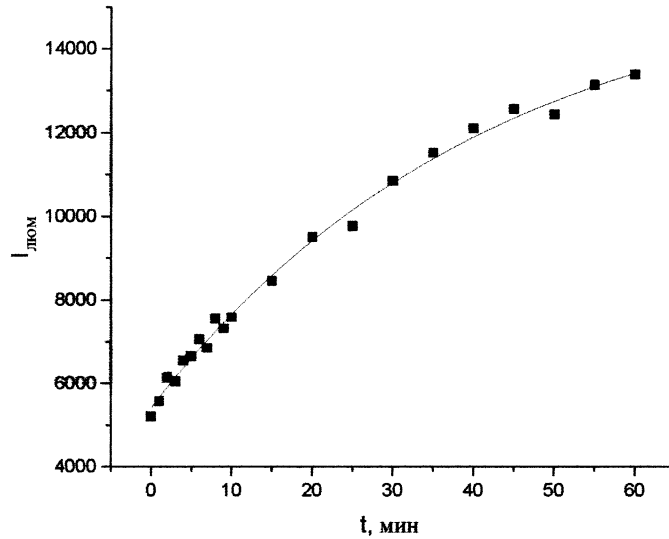


Рисунок 6 – Зависимость интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой верхней камерой от времени просветления.

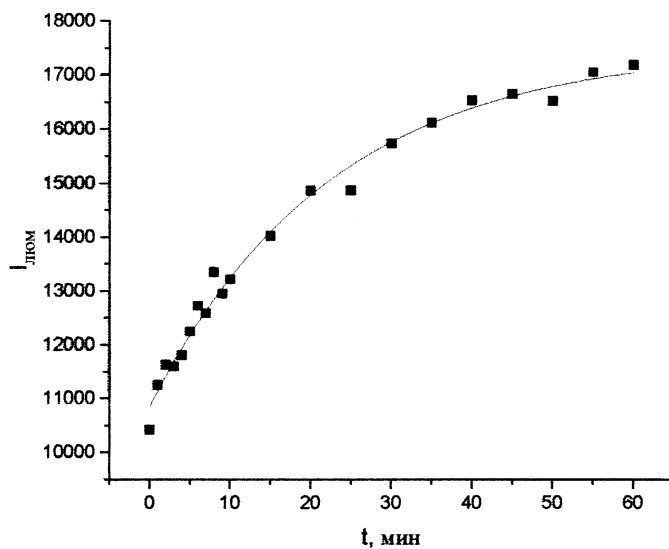


Рисунок 7 – Зависимость интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой нижней камерой от времени просветления.

Отношение, т.е. динамика просветления на длине волны люминесценции и корень квадратный из интегральной интенсивности

люминесценции, регистрируемой нижней камерой, а так же экстраполяция данных экспоненциальной зависимостью показаны на рисунках 8, 9.

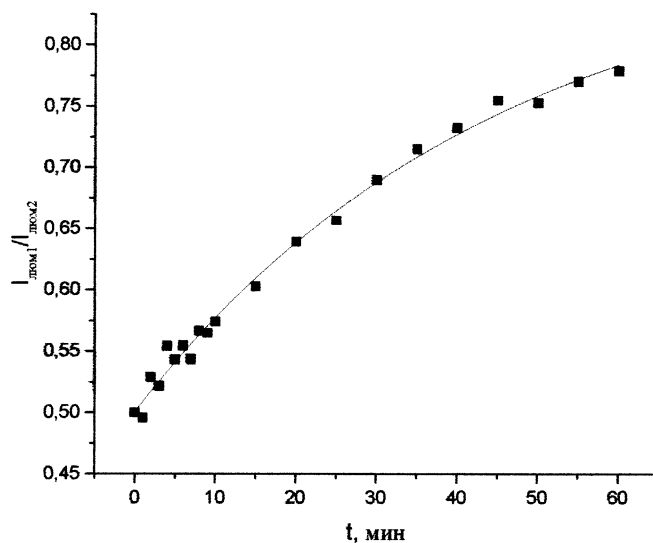


Рисунок 8 – Изменение во времени отношения интегральных интенсивностей, регистрируемых верхней и нижней камерами.

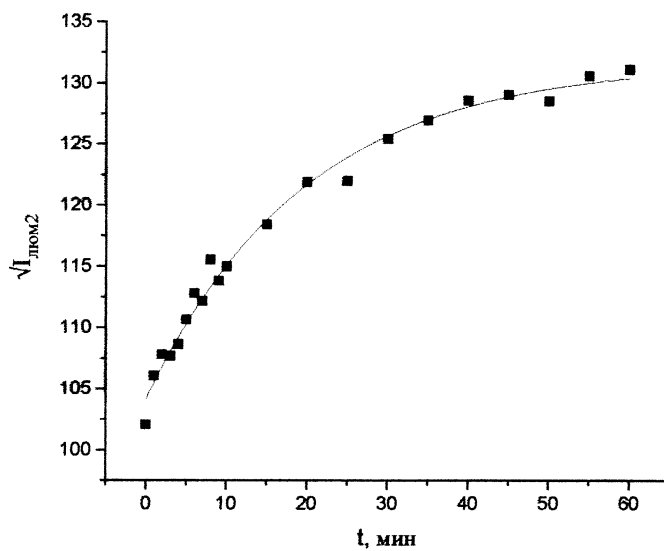


Рисунок 9 – Корень квадратный из интегральной интенсивности люминесценции, регистрируемой нижней камерой от времени просветления.

В разделе 3.4 представлены рассчитанные значения коэффициентов диффузии глюкозы (таблица 1).

Таблица 1 – Коэффициенты диффузии глюкозы 40 % в мышечную ткань, определенные по люминесценции ап-конверсионных наночастиц $Y_2O_3:Yb,Er^{3+}$.

Экспериментальные данные	Количество измерений	Коэффициент диффузии, cm^2/sec
Отношение интегральных интенсивностей, регистрируемых верхней и нижней камерами	20	$(5,78 \pm 3,1) * 10^{-6}$
Квадратный корень интенсивности, регистрируемой нижней камерой	26	$(6,6 \pm 3,8) * 10^{-6}$
Интегральная интенсивность люминесценции, регистрируемая нижней камерой	27	$(5,46 \pm 3,9) * 10^{-6}$

Полученные значения хорошо совпадают с литературными данными: $(2,98 \pm 0,94) * 10^{-6}$ [9].

Заключение

Проведены эксперименты по диффузии раствора глюкозы 40% в мышечную ткань курицы при одновременной регистрации люминесценции верхней камерой, сквозь ткань, и нижней, регистрирующей неослабленную люминесценцию. Интегральные интенсивности для обеих камер носят сложный характер зависимости от времени просветления. В то же время, отношение сигналов верхней и нижней камер характеризует только ослабление люминесценции при прохождении сквозь кожу. Нелинейная зависимость ослабления плотности мощности возбуждающего света и квадратичная зависимость интенсивности люминесценции ап-конверсионных наночастиц от мощности возбуждения при этом устраняются.

С использованием ап-конверсионные наночастиц $Y_2O_3:Yb,Er^{3+}$ получены достаточно близкие значения для данных, полученных непосредственно из сигнала от нижней камеры и корня квадратного из этих значений. Причина может заключаться в том, что зависимость интенсивности люминесценции от плотности мощности возбуждения, как правило, не соответствует квадратичной, полученной из теории ап-конверсии. Реальная степень лежит в диапазоне от 1 до 2. Лучшее совпадение для случая непосредственных измерений от нижней камеры и отношения сигналов говорит о том, что зависимость люминесценции частиц от плотности мощности возбуждения близка к линейной.

Для образцов $NaYF_4:Yb,Er^{3+}$ различие с литературными данными больше. Полученное значение превышает литературные данные в три раза. Ошибка может быть связана с недостаточной интенсивностью люминесценции частиц в красной области спектра.

Список использованных источников

- 1 S. Jiang, M.K. Gnanasammandhan and Y. Zhang, Optical imaging-guided cancer therapy with fluorescent nanoparticles. / *J. R. Soc. Interface*, 2010, v. 7, p. 3–18.
- 2 I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, and H. Mattoussi, Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. / *Nat. Mater.*, 2005, v. 4(6), p. 435–446.
- 3 M. Ryvolova, J. Chomoucka, J. Drbohlavova, P. Kopel, P. Babula, D. Hynek, V. Adam, T. Eckschlager, J. Hubalek, M. Stiborova, J. Kaiser and R. Kizek, Modern Micro and Nanoparticle-Based Imaging Techniques. / *Sensors*, 2012, v. 12, p. 14792-14820.
- 4 N. Zhou, J. Ni, R. He, Advances of Upconversion Nanoparticles for Molecular Imaging. / *Nano Biomed Eng.*, 2013, v. 5(3), p. 131-139.
- 5 J. Shan, et al., NIR-to-visible upconversion nanoparticles for fluorescent labeling and targeted delivery of siRNA. / *Nanotechnology*, 2009, v. 20(15), p. 155101.
- 6 J. Zhou, Z. Liu, F. Li, Upconversion nanophosphors for small-animal imaging. / *Chem. Soc. Rev.*, 2012, v. 41(3), p. 1323-49.
- 7 D.K. Chatterjee, Z. Yong, Upconverting nanoparticles as nanotransducers for photodynamic therapy in cancer cells. / *Nanomedicine*, 2008, v. 3, p. 73–82.
- 8 D.K. Chatterjee, A.J. Ruffalhah, Y. Zhang, Upconversion fluorescence imaging of cells and small animals using lanthanide doped nanocrystals. / *Biomaterials*, 2008, v. 29, p. 937–943.
- 9 Генина Э.А., Башкатов А.Н., Козинцева М.Д., Тучин В.В. ОКТ-исследование оптического просветления мышечной ткани *in vitro* с помощью 40%-ного раствора глюкозы // *Оптика и спектроскопия*. — 2016. — Т.120, №1. — С. 27–35.