

«ТРЕХЦВЕТНЫЕ» АПКОНВЕРТИРУЮЩИЕ НАНОФОСФОРЫ ДЛЯ 3D ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПАТОЛОГИИ В БИОТКАНЯХ

В.В. Рочева¹, А.С. Ахманов¹, А.В. Звягин¹, Ю.В. Лысак¹, А.В. Нечаев², В.Я. Панченко¹, В.А. Семчишен¹, В.И. Соколов¹, Е.В. Хайдуков¹

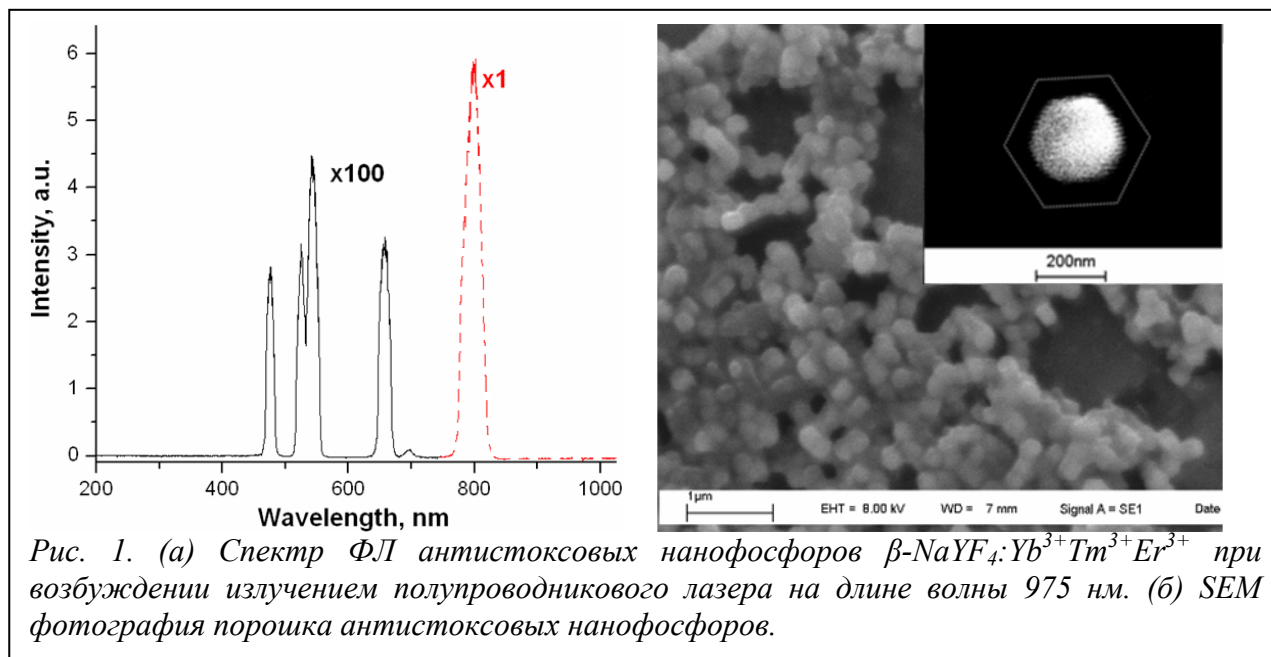
¹ Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН; ² Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова
E-mail: vrocheva@mail.ru

Биомаркеры на основе кристаллов наноразмерных апконвертирующих фосфоров (НАФ) перспективны для диффузионной оптической томографии (ДОТ) патологических очагов, например опухолей, располагающихся на поверхности или в толще биоткани [1-3]. Уникальность метода ДОТ заключается в том, что он пригоден не только для диагностики, но может быть использован непосредственно при хирургическом вмешательстве для коррекции объема резекции. Например, при мастэктомии объем операции зависит от наличия метастаз в регионарных лимфоузлах. Такие метастазы могут быть обнаружены до операции с помощью разрабатываемой нами апконверсионной диффузионной оптической томографии, а в процессе хирургического вмешательства врач может скорректировать объем удаляемой ткани.

Нанокристаллы NaYF_4 , легированные трехвалентными редкоземельными ионами, нетоксичны и обладают стабильной узкополосной эмиссией при возбуждении в ближнем ИК диапазоне [4]. Способность нанофосфоров к антистоксовой люминесценции открывает возможность их использования в глубокой диффузионной оптической томографии и визуализации биологических процессов в реальном времени. Регистрация сигнала в более коротковолновой (по сравнению с длиной волны возбуждения) части спектра позволяет исключить вклад тканевой аутофлуоресценции и тем самым повысить чувствительность метода [5].

Для визуализации наномаркеров, локализованных в злокачественной опухоли в глубине биоткани, необходимо как можно глубже проникнуть в ткань излучением, возбуждающим фотолюминесценцию (ФЛ). Окно оптической прозрачности биологической ткани находится в диапазоне 750 - 1000 нм. Поэтому для целей глубокого оптического зондирования идеально подходят НАФ, накачиваемые излучением полупроводникового лазера на длине волны 975 нм. Нами были синтезированы новые «трехцветные» НАФ $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Tm}^{3+}\text{Er}^{3+}$ с сильными линиями люминесценции на 800, 660, 530 и 480 нм при возбуждении излучением с длиной волны 975 нм. Трехцветные НАФ, с учетом разных коэффициентов светорассеивания и поглощения в биоткани для трех линий люминесценции, открывают путь к разработке многоволновой оптической имиджинговой системы, позволяющей реконструировать 3D изображение патологического очага в глубине биоткани.

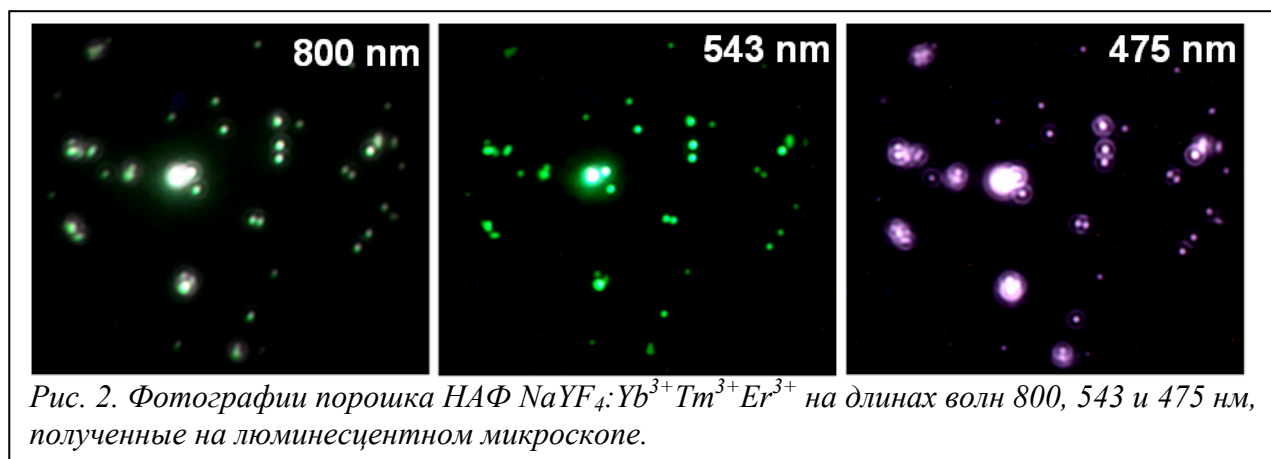
Спектр фотолюминесценции наночастиц $\beta\text{-NaYF}_4$ одновременно солегированных ионами Yb^{3+} , Tm^{3+} , Er^{3+} , при возбуждении излучением с длиной волны 975 нм представлен на Рис. 1.



Спектр ФЛ синтезированных «трехцветных» НАФ имеет сильную линию в ИК (800 нм), красной (657 нм), зеленой (543, 525 нм) и синей (475 нм) областях спектра. Соотношение между линиями ФЛ в таком наноконтакте соответствует соотношению линий смеси нанокристаллов $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Er}^{3+}$ и $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Tm}^{3+}$. Это свидетельствует об отсутствии конкуренции в синтезированных НАФ между заселением уровней Tm^{3+} и Er^{3+} в кристалле при синхронном двухступенчатом энергообмене (явление апконверсии).

Трехцветные НАФ $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Tm}^{3+}\text{Er}^{3+}$ исследовались методами АСМ, SEM и ТЕМ микроскопии. Результаты исследований показали, что наночастицы имеют характерный размер 150 - 200 нм и находятся в эффективной для ФЛ β – фазе (см. вставку на Рис. 1б).

Исследования ФЛ порошка НАФ с помощью люминесцентного микроскопа показали, что светящие области в разных спектральных диапазонах совпадают. Следовательно, синтез нанокристаллов, одновременно допированных тремя лигандами, проведен успешно.



Для улучшения пространственной локализации маркированных НАФ злокачественных новообразований мы предлагаем использовать новую схему апконверсионного диффузионного оптического томографа, состоящего из полупроводникового лазера (975 нм), системы регистрации (спектрометр с диодной линейкой) и специального многожильного оптоволоконного зонда, Рис. 3.

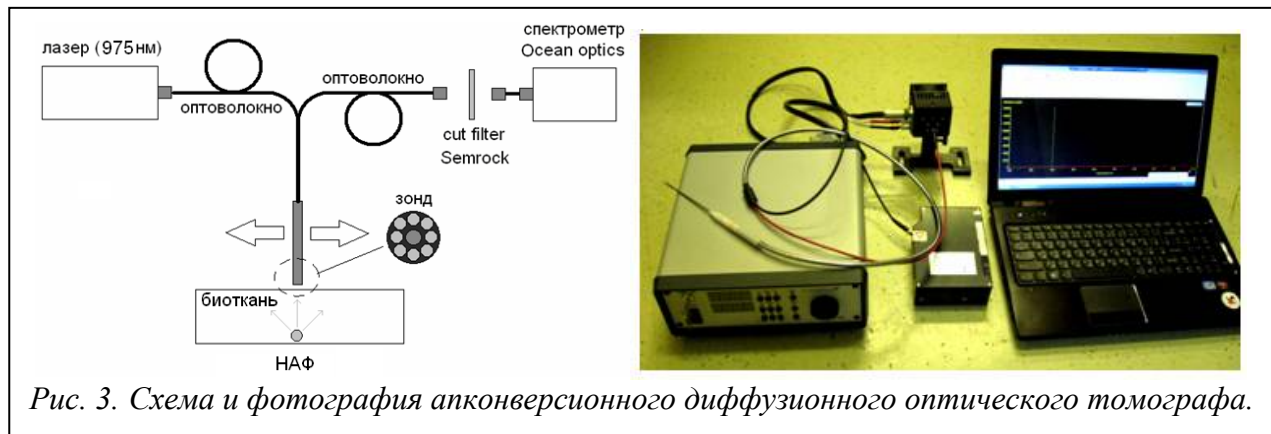


Рис. 3. Схема и фотография апконверсионного диффузионного оптического томографа.

Использование многожильного оптоволоконного зонда, в котором совмещены каналы возбуждения НАФ и сбора сигнала ФЛ, позволяет повысить пространственное разрешение в плоскости зондирования (X-Y координата) более чем в 2 раза по сравнению с известным методом регистрации с помощью CCD видеокамеры [6]. Использование спектрометра, дихроичных зеркал и отрезающих фильтров в схеме регистрации позволяют проводить измерения при естественном освещении. С использованием томографа были зарегистрированы сигналы ФЛ от НАФ, залегающих в биоткани на глубине более 1 см.

Таким образом, синтезирован новый класс «трехцветных» НАФ, обладающих интенсивными линиями люминесценции в видимой и ближней ИК областях спектра (480, 530, 660 и 800 нм). Свет перечисленных длин волн поглощается тканями по-разному, что позволяет по соотношению интенсивностей ФЛ на разных длинах волн определять локализацию маркированной НАФ области по глубине (Z координата). Анализ томографических данных позволяет получать 3D изображения патологии в биотканях на глубинах до 1 см.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 12-02-31845 мол_А и 12-04-01258 а.

1. А.В. Звягин, В.Я. Панченко, А.В. Нечаев, А.Б. Шехтер, С.М. Деев, А.С. Ахманов, А.Е. Гулер, Е.И. Ивукина, А.Н. Генералова, В.А. Семчишен, Е.В. Хайдуков. Антистоксовы нанолуминофоры: Перспективы применения в биологии и медицине// Сборник материалов V Троицкой конференции «Медицинская физика и инновации в медицине» (г. Троицк, Московская область, 4–8 июня 2012 года), Троицкий научный центр, МОНИКИ, Том. 2, с. 8-9, 2012.
2. H.S. Mader, P. Kele, S.M. Saleh, O.S. Wolfbeis, “Upconverting luminescence nanoparticles for use in bioconjugating and bioimaging”, Current Opinion in chemical Biology, 14, 582-596, 2010.
3. X. Yi, M. Li, M. Xie, L. Chen, Y. Li, Q. Wang, «Dopant-controlled synthesis of water-

- soluble hexagonal NaYF₄ nanorods with efficient upconversion fluorescence for multicolor bioimaging», *Nano Res.*, 3, 51-60, 2010.
4. *Inorganic Phosphors; Compositions, Preparation and Optical properties*, edited by W.M. Yen, M.J. Weber, CRC Press, vol. 20, 2004.
 5. C. T. Xu, J. Axelsson, and S. Andersson-Engels, "Fluorescence diffuse optical tomography using upconverting nanoparticles" *Appl. Phys. Lett.* 94, 251107, 2009.
 6. F. Leblond, S.C. Davis, P.A. Valdes, B.W. Pogue "Pre-clinical whole-body fluorescence imaging: Review of instruments, methods and applications" *J Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 98, 77-94, 2010.