

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра оптики и биофотоники

**Нанотермометрия биологических тканей при проведении
плазмонно-резонансной фототерапии**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студента 2 курса 254 группы

направления 03.04.02 «Физика» физического факультета

Усталкова Сергея Олеговича

Научный руководитель

доцент, к.ф.-м.н.

 17.06.19 А.А. Скапцов

Зав. кафедрой

профессор, д.ф.-м.н.

 17.06.19 В.В. Тучин

Саратов 2019

Введение. В данной работе в качестве фототермических преобразователей используются золотые наностержни. На роль нанотермометров выбраны апконвертирующий нанофосфор NaYF_4 , легированный трёхвалентными ионами Yb^3 и Er^3 .

Структура работы выглядит следующим образом:

Введение

1 Плазмонно-резонансная фототерапия

2 Нанотермометрия с применением апконверсионных наночастиц

3 Разработка и реализация 3d моделей экспериментальной установки

4 Результаты измерения температуры в процессе модельного эксперимента плазмонно-резонансной фототерапии

Заключение

Список использованных источников

Целью настоящей работы является разработка метода осуществления контроля внутренней температуры биологической ткани во время процесса плазмонно-резонансной фототермотерапии.

Поставлены следующие задачи: 1) проектирование и создание трехмерных моделей частей экспериментальной установки, 2) проведение модельного лазерного термолиза яичного альбумина с использованием золотых наностержней, 3) регистрация внутренней температуры яичного альбумина по спектрам люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ возле сильнопоглощающего лазерное излучение объекта при проведении модельного лазерного термолиза, 4) установление фототермодинамических зависимостей процесса денатурации яичного альбумина от плотности мощности лазерного излучения.

Основное содержание работы. Разработка деталей для экспериментальной установки осуществлялась в программном обеспечении КОМПАС-3D. Первоначально для первой детали разрабатывались составные части, компоненты конечной детали, а затем они объединялись в конечную сборку. Конечная сборка должна содержать два зажима для коллимирующих

линз и разъем под интерференционный фильтр. Кроме того, она должна быть устойчивой. Также, разрабатывалась деталь-держатель интерференционного фильтра. Ниже представлены чертежи, 3D модели и описания каждого обеих конечных деталей. Линейные размеры имеют размерность мм, угловые размеры выражены в градусах.

На рисунке 1 изображены чертеж и 3D модель первой детали. Геометрия зажимов задана таким образом, чтобы каждый из зажимов мог вмещать в себя коллимирующую линзу 74-ой серии. Расположение зажимов подобраны так, чтобы оптические пути, проходящие через коллимирующие линзы, сходились в точке, в которой расположен объект исследований. Данная деталь устанавливается на специальную платформу с резьбовыми отверстиями, диаметр которых составляет 3,2 мм, а расстояние между их центрами – 60 мм. В центре данной детали располагается экспериментальный образец.

На рисунке 2 изображены чертеж и 3D модель второй детали, представляющий собой держатель интерференционного фильтра. Размеры интерференционного фильтра составляют 22x72x2.

Далее, разработанные детали были напечатаны на 3D принтере.

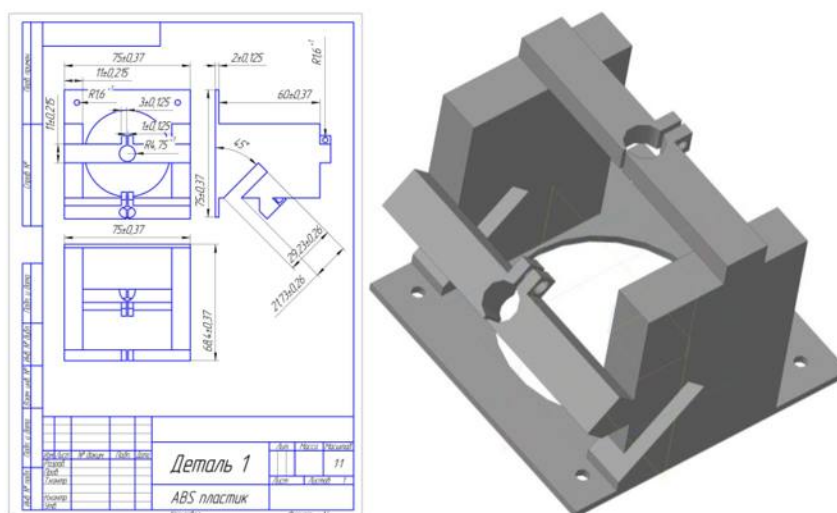


Рисунок 1 – Чертеж (слева) и 3D модель (справа) сборки экспериментальной установки.

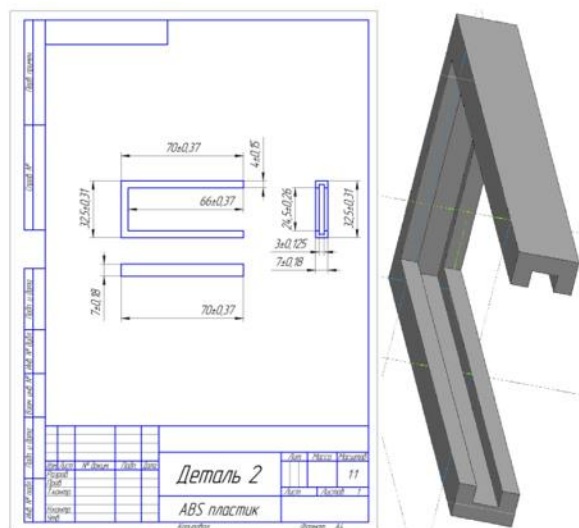


Рисунок 2 – Чертеж (слева) и 3D модель (справа) детали-держателя интерференционного фильтра.

Экспериментальная установка состоит из следующих основных частей: лазерный источник излучения ближнего инфракрасного диапазона, спектральный измерительный оптический прибор, измеритель мощности лазерного излучения, тепловизионное устройство, видеокамера. Схема экспериментальной установки изображена на рисунке 3. В качестве биологической ткани использовался яичный альбумин.

Первая серия экспериментов проводилась следующим образом. В яичный альбумин в чашке Петри добавлялись золотые наностержни. Толщина слоя образца составляла 3 мм. Снимки золотых наностержней, полученные с просветляющего электронного микроскопа, и их спектр поглощения показаны на рисунке 4. Нагрев осуществлялся за счет поглощения золотыми наностержнями сфокусированного лазерного пучка лазерного модуля (808 нм, 2000 мВт, DPSSL, Китай) с выводом в оптоволокно (коннектор SMA-905). Диаметр лазерного пучка составлял 5,1 мм. Температура регистрировалась тепловизором IRISYS 4010 (InfraRedIntegrated System Ltd, Великобритания). С помощью измерителя мощности лазерного излучения Thorlabs PM100D (Thorlabs Inc., США) измерялась мощность излучения лазерного излучения и мощность излучения, прошедшего сквозь яичный альбумин. На цифровую видеокамеру записывалась динамика процесса денатурации яичного альбумина вследствие его нагрева.

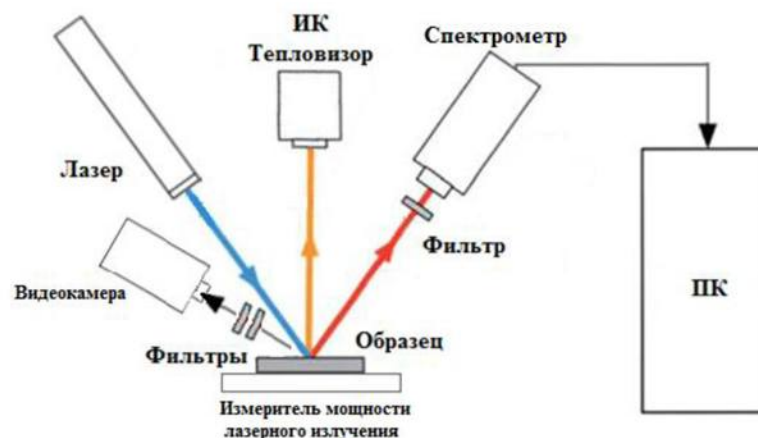


Рисунок 3 – Схема экспериментальной установки.

Зависимость температуры от времени аппроксимирована следующей функцией:

$$T = A - B \cdot \exp(-t/C), \quad (1)$$

где t – время, A , B и C – коэффициенты подгонки. Результаты, полученные при аппроксимации, представлены на рисунке 5. Как видно, после определенного момента времени для плотностей мощности $3,75 \text{ Вт/см}^2$ и $7,5 \text{ Вт/см}^2$ следует отклонение данных, полученных при эксперименте, от экспоненциальной кривой. То есть примерно после достижения температурной отметки в 52°C температура резко возрастает. Это свидетельствует о том, что началась денатурация ткани. В свою очередь можно увидеть, что при плотности мощности $1,5 \text{ Вт/см}^2$ процесс денатурации так и не начался из-за нехватки приведенного тепла.

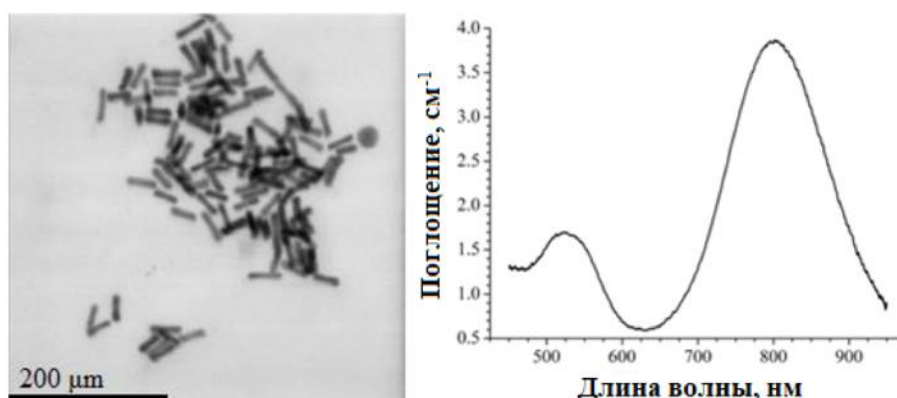


Рисунок 4 – Снимки золотых наностержней с просветляющего электронного микроскопа (слева) и их спектры поглощения (справа).

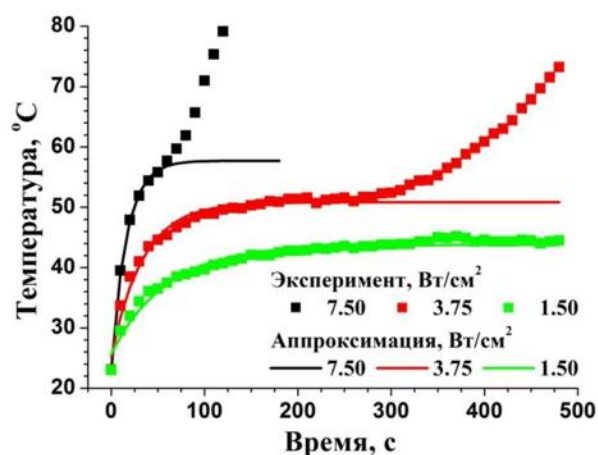


Рисунок 5 – Зависимость температуры образца от времени для различных плотностей мощности лазерного излучения.

На рисунке 6 изображена зависимость коэффициента пропускания от температуры образца. Коэффициент пропускания рассчитывался как отношение мощности лазерного излучения, прошедшей сквозь яичный альбумин, к падающей. Этот рисунок также подтверждает предположение, что белок денатурирует при температуре 52,1 °С, так как при преодолении определенной температуры начинается резкий спад пропускания образца, связанный с увеличением оптической плотности среды. Это способствует дополнительному нагреву системы, связанному с поглощением большего количества тепла, что объясняет отклонение от экспоненциального закона кривой нагрева при начале денатурации биологической ткани.

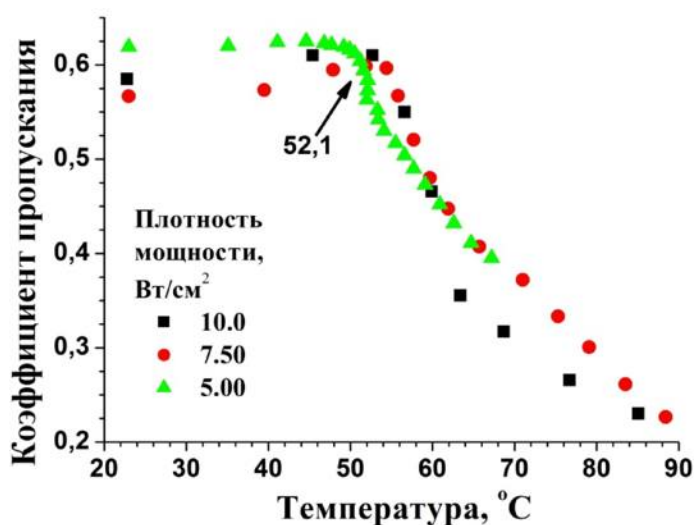


Рисунок 6 – Зависимость коэффициента пропускания от температуры образца для различных плотностей мощности лазерного излучения.

С помощью рисунка 6 была построена зависимость количества поглощенной энергии от времени, на основании которой была вычислена зависимость теплоемкости от температуры образца для различных плотностей мощности, представленная на рисунке 7. Из зависимостей теплоемкости от температуры видно, что для малых плотностей мощности пиковое значение приходится на температуру начала денатурации альбумина. Однако увеличение плотности мощности ведет к сдвигу максимума теплоемкости в сторону больших температур.

По видеозаписям, снятым на цифровую видеокамеру, измерены размеры области денатурации альбумина, построены и аппроксимированы зависимости объема денатурированной ткани от поглощенной энергии для различных плотностей мощности. Полученные зависимости между объемом денатурированной ткани и поглощенной энергией, представленные на рисунке 8, носят линейный характер.

Для второй серии экспериментов был приготовлен фантом биологической ткани, содержащий апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$. Снимки апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$, полученные с просветляющего электронного микроскопа, и их спектр люминесценции при возбуждении на длине волны 980 нм изображены на рисунке 9.

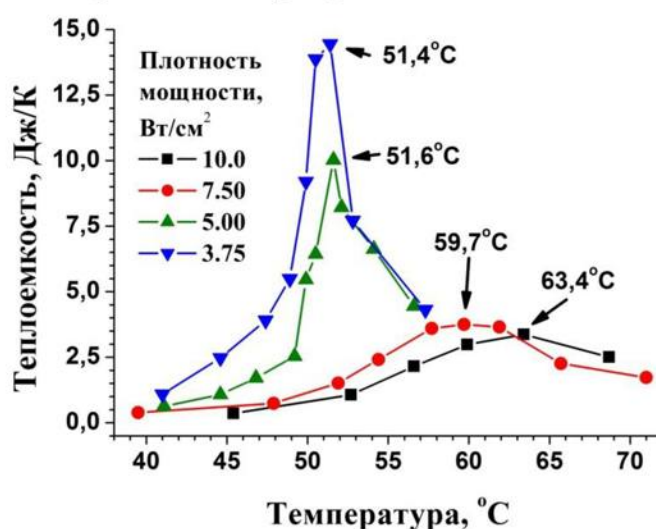


Рисунок 7 – Зависимость теплоемкости образца от температуры для различных плотностей мощности лазерного излучения.

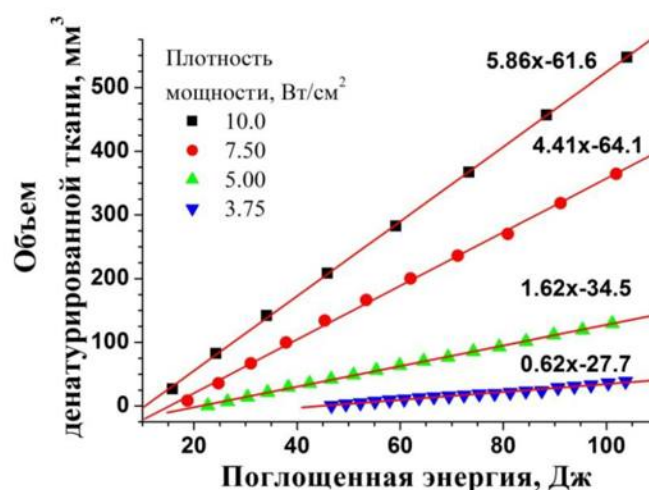


Рисунок 8 – Зависимость объема денатурированной ткани от поглощенной энергии для различных плотностей мощности лазерного излучения.

При приготовлении фантома использовались: апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$, А и В компаунды эпоксидные оптические (ПЭО-90, Лаборатория физики полимеров, Санкт-Петербург, Россия) в пропорции 4:1. Перед приготовлением фантома оптическая эпоксидная смола (компаунд А) нагревалась до 55 °С. К компаунду А добавлялся измельченный в порошок активированный уголь. После добавления загустителя (компаунд В) раствор механически перемешивался, а затем полученная реакционная смесь оставлялась на одни сутки при температуре 75 °С. Апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ размещались на поверхности фантома биоткани.

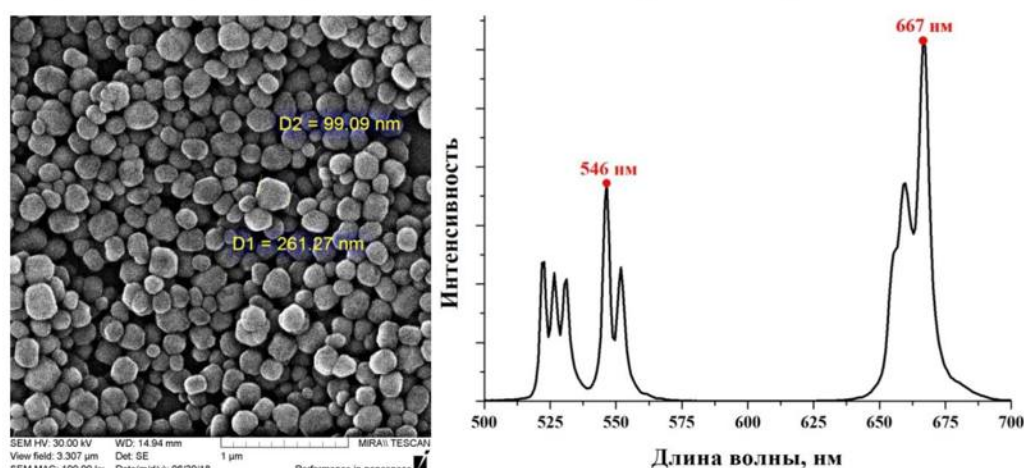


Рисунок 9 – Снимки апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ с просветляющего электронного микроскопа (слева) и их спектр люминесценции при возбуждении на длине волны 980 нм.

Полученный фантом биологической ткани помещался в яичный альбумин, расположенный в чашке Петри. Лазерный источник света, используемый в прошлой серии экспериментов, был заменен на лазерный модуль (980 нм, 1000 мВт, модель STLE-M-980-W010, Китай). Спектры люминисценции регистрируются с помощью спектрометра QEPRO с волоконным входом (Ocean Optics, США), на обратном конце которого располагается фокусируемая коллимирующая линза 74-ой серии. Спектрометр подключен к компьютеру через порт USB 2.0. Управление спектрометром осуществляется с помощью программного обеспечения OceanView. Кроме измерения температуры поверхности образца посредством инфракрасного тепловизора также измерялась температура внутри образца по спектрам люминисценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$. Исследование спектра люминисценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ при возбуждении на 980 нм (рисунок 9) показало, что спектр имеет сложную форму с двумя максимумами на 546 и 667 нм. Калибровочная линия представлена на рисунке 10. Для нахождения зависимостей между температурой и отношением интенсивностей с длинами волн 546 и 667 нм выполнялась аппроксимация линейной функцией:

$$T = D - E \cdot \Delta, \quad (2)$$

где D и E – коэффициенты, $\Delta = I_{667}/I_{546}$.

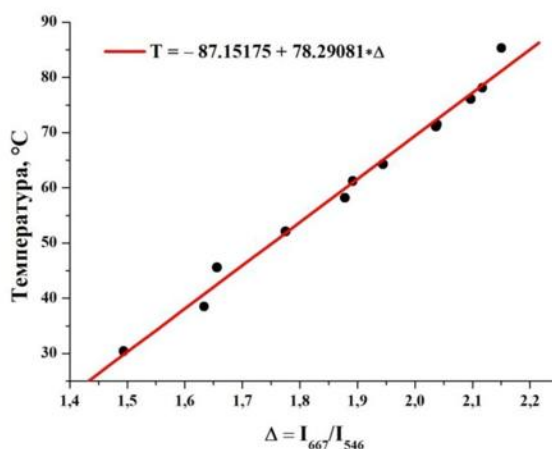


Рисунок 10 – Калибровочная линия для апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$.

Как видно из рисунка 10, зависимость между отношением интенсивностей люминесценции и температурой для данного диапазона температур имеет линейный характер. С ростом температуры увеличивается величина Δ . После проводились эксперименты по модельному лазерному термолизу по аналогии с первой серией экспериментов. Исключением является то, что в качестве источника тепла и поглотителя лазерного излучения в этой серии экспериментов являлся фантом биологической ткани, а также измерялась температура возле теплового источника по спектрам люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ и полученным калибровочным линиям.

На рисунке 11 представлены температура на поверхности яичного альбумина, измеренная тепловизором, и температура возле источника тепла, расположенного внутри биологической ткани, восстановленная по спектрам люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ и полученным калибровочным линиям. Как видно из рисунка 11, после достижения определенного значения изменение внутренней температуры также меняет тенденцию, что вызвано процессом денатурации белка. По видеозаписи видно, что процесс денатурации альбумина начался, однако тепловизор данное явление не фиксирует, так как это происходит внутри биоткани.

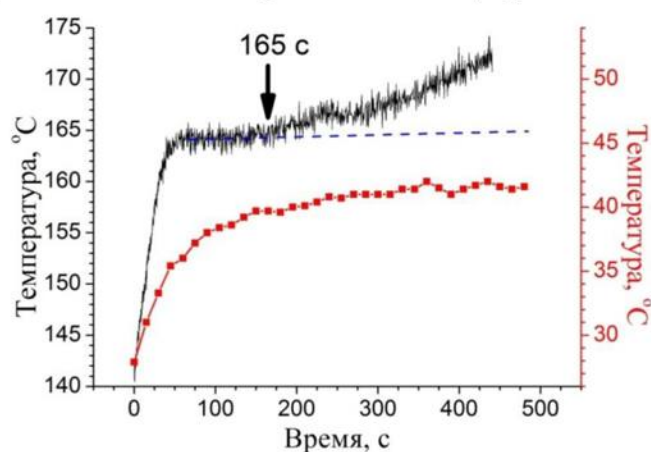


Рисунок 11 – Зависимость температуры внутри (черный цвет, апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$) и на поверхности (красный цвет, тепловизор) альбумина от времени.

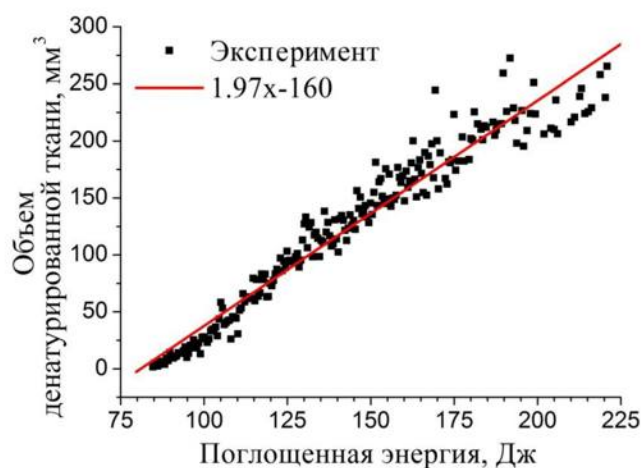


Рисунок 12 – Зависимость объема денатурированной ткани от поглощенной энергии.

По видеозаписям, снятым на цифровую видеокамеру, измерены размеры области денатурации альбумина, построены и аппроксимированы зависимости объема денатурированной ткани от поглощенной энергии. Полученная зависимость между объемом денатурированной ткани и поглощенной энергией, представлена на рисунке 12. Эта зависимость также линейна.

Заключение. В ходе работы выполнены следующие задачи: 1) спроектированы и напечатаны на 3D принтере части экспериментальной установки, 2) проведен модельный лазерный термолиз яичного альбумина с использованием золотых наностержней, 3) построена калибровочная линия для апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ для диапазон температур 30-85 °C и заданной геометрии эксперимента, 4) проведен модельный лазерный термолиз яичного альбумина с регистрацией температуры внутри образца по спектрам люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ возле сильнопоглощающего лазерное излучение объекта, 5) установлены фототермодинамические зависимости процесса денатурации яичного альбумина от плотности мощности лазерного излучения.

По результатам работы можно сделать ряд выводов. Установлено, что: 1) при проведении фототермической терапии существует минимальная необходимая для начала процесса денатурации биоткани плотность мощности лазерного излучения, 2) начало денатурации биоткани можно определить по отклонению температуры от экспоненциального закона нагрева с резким

повышением температуры, 3) начало денатурации биоткани можно определить по резкому уменьшению пропускания биоткани, связанного с повышением оптической плотности среды, 4) для малых плотностей мощности лазерного излучения максимальное значение теплоемкости приходится на температуру начала денатурации, причем с увеличением плотности мощности лазерного излучения максимум теплоемкости сдвигается в сторону больших температур, 5) объем денатурированной биоткани линейно зависит от поглощенной энергии, а скорость денатурации в свою очередь зависит от плотности мощности лазерного излучения, 6) по термочувствительной люминесценции апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ можно определить начало процесса денатурации внутри биоткани, в то время как тепловизор этого не фиксирует.

На основе этих выводов можно заключить, что при проведении фототермотерапии на глубине биологической ткани существует необходимость в использовании нанотермометрических люминесцентных зондов, при помощи которых можно измерить как локальную температуру, так и начало процесса денатурации биологической ткани. Одними из подходящих на эту роль наноматериалов являются апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$. Однако, в свою очередь, необходимо дальнейшее изучение данной проблемы, а также разработка методов обратной связи, связанных с управлением за приведенным к биологической ткани теплом.

17.06.18 *Гсм*