

УДК 57.621.383; 61.621.383

И.Ю. Янина^{1,2}, В.И. Кочубей^{1,2}¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия²Томский национальный исследовательский государственный университет, Томск, Россия

ПРИМЕНЕНИЕ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ В КАЧЕСТВЕ ТЕРМОДАТЧИКА ДЛЯ БИОТКАНИ

Показана возможность одновременной регистрации температуры наночастиц, внедренных в жировой слой, и наночастиц, обусловленных температурой фазовых переходов в слое жира. Спектры люминесценции апконверсионных частиц (АКНЧ) были измерены и проанализированы в широком диапазоне температур: от комнатной до физиологической и выше – до гипертермических температур, приводящих к изменению морфологии ткани. Типичная толщина образцов жировой ткани составляла 0,5 мм. Температура образца варьировалась от 25 до 60 °С. Регистрировали температурную зависимость интенсивности люминесценции АКНЧ от АКНЧ, нанесенных на поверхность образца (1 слой), и от АКНЧ, помещенных между двумя слоями абдоминальной жировой ткани. В процессе нагревания адипоцита липиды жировой капли сначала переходят из кристаллической формы в жидкокристаллическую, а затем в жидкую форму, которая характеризуется гораздо меньшим рассеянием. Наиболее хорошо регистрируется высокотемпературный переход. Полученные результаты подтверждают высокую чувствительность люминесцентных АКНЧ к изменениям температуры в тканях и демонстрируют большой потенциал для контролируемого термолитиза тканей.

Ключевые слова: апконверсионные наночастицы, жировая ткань, фазовый переход, термодатчик.

I.Yu. Yanina, V.I. Kochubey

Saratov National Research State University, Saratov, Russia

Tomsk National Research State University, Tomsk, Russia

APPLICATION OF UPCONVERSION NANOPARTICLES AS A THERMAL SENSOR FOR BIOLOGICAL TISSUE

The paper shows the possibility of simultaneous registration of the temperature of nanoparticles embedded in the fat layer and temperature-induced phase transitions in the fat layer. The luminescence spectra of upconversion particles (UCNPs) were measured and analyzed in a wide temperature range: from room to physiological and further to a hyperthermic temperature resulting in tissue morphology change. Typical samples thickness of adipose tissue was 0.5 mm. The sample temperature varied between 25 °C and 60 °C. The temperature dependence of the UCNPs luminescence intensity from UCNPs deposited onto the sample surface (1 layer) and from UCNPs deposited between two layers of abdominal adipose tissue was recorded. In the course of adipocyte heating, lipids of fat droplet first transit from a crystalline form to a liquid crystal form and then to a liquid form, which is characterized by

much less scattering. The high-temperature transition is recorded most well. The obtained results confirm a high sensitivity of the luminescent UCNPs to the temperature variations within tissues and show a strong potential for the controllable tissue thermolysis.

Keywords: upconversion nanoparticles, adipose tissue, phase transition, temperature sensor.

Методы, основанные на люминесценции, являются отличным инструментом для исследования фундаментальных процессов в науках о жизни. Они представляют собой чрезвычайно важные и мощные (био)аналитические подходы в медицине, биологии и химии благодаря их быстрым, чувствительным (вплоть до уровня отдельных молекул), надежным и воспроизводимым процедурам обнаружения. Существует большое разнообразие молекулярных хромофоров (например, органические красители, комплексы металл-лиганд, хелаты лантанидов или флуоресцентные белки), из которых можно выбирать для (био)визуализации и сенсорных приложений [1].

Одним из перспективных материалов для развития методов фототерапии являются функционализированные апконверсионные наночастицы (АКНЧ), которые могут способствовать не только увеличению эффективности фотодинамической терапии, но и оказывать дополнительный фототермический эффект с одновременным контролем температуры области терапии [2].

АКНЧ – частицы, люминесцирующие в видимой области спектра при возбуждении в инфракрасной области. Люминесценция возникает вследствие суммирования энергии нескольких поглощенных квантов возбуждающего излучения с излучением одного кванта с большей энергией. Явление апконверсионной люминесценции (АКЛ) наблюдается в неорганических кристаллах, называемых апконверсионными фосфорами, допированных некоторыми трехвалентными ионами редкоземельных металлов.

Структура решетки матрицы определяет расстояние между ионами примеси, их относительное пространственное положение, координационные числа и тип окружающих анионов [2]. Поэтому свойства кристаллической матрицы и ее взаимодействие с ионами примесных элементов оказывают сильное влияние на процесс апконверсии. Есть два важных фактора, которые определяют выбор материалов матрицы. Снижение эффективности апконверсии может быть вызвано потерями энергии на тепловые колебания решетки, – фононы. Поэтому решетка матричного материала должна характе-

ризоваться низкой энергией фононов. Также важным требованием является минимальное несоответствие ионам примеси таким параметрам решетки, как заряд и размер иона, так как ионы примеси должны встраиваться в узлы матричной решетки с минимальными нарушениями ее структуры. Это позволяет избежать дополнительных дефектов кристаллической структуры, оказывающих негативное влияние на процесс апконверсии.

В качестве матрицы используют кристаллы NaYF_4 , YF_3 , Y_2O_3 и др. Кроме того, эффективность конверсии также может быть увеличена путем уменьшения размера катиона матрицы, что приводит к увеличению напряженности кристаллического поля. Например, интенсивность люминесценции АКЧ $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ в два раза больше, чем АКЧ $\text{NaLaF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ [3].

Два различных типа ионов примеси играют роль донора и акцептора. Низкоэнергетическое излучение ближнего инфракрасного диапазона возбуждает ионы донора, энергия которого каскадно передается ионам акцептора посредством нескольких механизмов [3]. Суммирование энергии нескольких квантов возбуждения приводит к тому, что ионы акцептора переходят в возбужденные состояния, с последующим излучением АКЛ видимого диапазона. Спектр АКЛ определяется ионами акцептора, а пара «донор–акцептор» в целом подбирается, исходя из возможных резонансов их энергий переходов. Наиболее часто используемые пары «донор–акцептор»: $\text{Yb}-\text{Er}$, $\text{Yb}-\text{Tm}$, $\text{Yb}-\text{Ho}$ и др. На рис. 1 представлена схема энергетических уровней ионов Er^{3+} , Yb^{3+} и Tm^{3+} , которая демонстрирует, что пара «донор–акцептор» определяет спектральный диапазон люминесценции.

Важно, что возбуждение АКЛ в БИК-области обеспечивает отсутствие автофлуоресценции биологической ткани, что увеличивает отношение сигнал/шум и чувствительность измерения люминесценции. Контроль нагрева ткани при создании локальной гипертермии возможен вследствие зависимости спектра АКЛ от температуры частиц [4, 5].

Основной целью настоящего исследования является применение термочувствительных люминесцентных АКНЧ ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$) для мониторинга температуры в жировых тканях *in vitro* в широком диапазоне температур, от комнатной до температуры тела человека и далее до гипертермических температур.

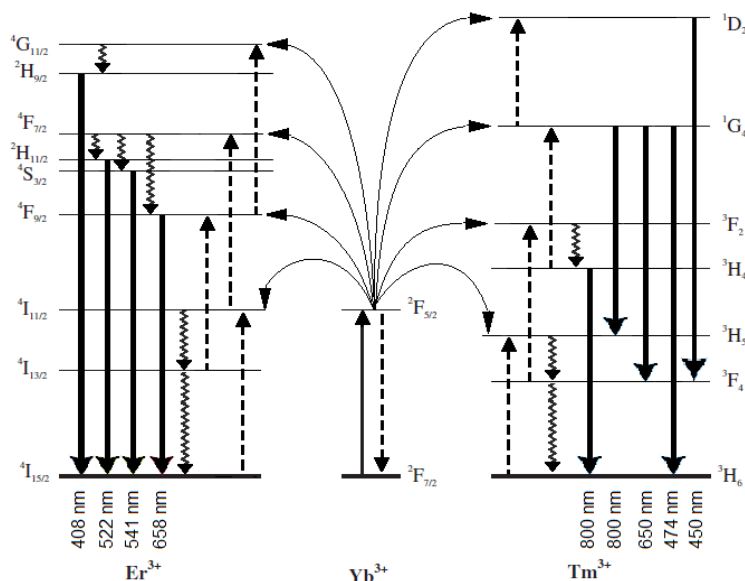


Рис. 1. Схема энергетических уровней ионов Er^{3+} , Yb^{3+} и Tm^{3+} . Ионы Yb^{3+} и Er^{3+} (Tm^{3+}) играют роли донора и акцептора соответственно [2]

Для данного исследования применялись синтезированные нами АКНЧ $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}$, Er^{3+} (фторидная матрица, солегированная ионами иттербия и эрбия), покрытые оболочкой SiO_2 (порошок). Частицы ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}$, Er^{3+}) синтезированы гидротермальным методом, средний размер которых составляет порядка 0,22 мкм.

На рис. 2 представлена схема экспериментальной установки для измерения температурных зависимостей интенсивности люминесценции, АКНЧ состояла: из элемента Пельтье с датчиком регулирования температуры (Perkin Elmer PTP 1, USA); полупроводникового лазера с длиной волны 980 нм и мощностью около 108 мВт (размер лазерного пучка 2,3×3 мм) (DMH980-200, B&W Grason Technology CO.,Ltd China); спектрометра (Ocean Optics QE6500 FL, США); светофильтр (СЗС21); ИК-тепловизора IRISYS 4010 (InfraRed Integrated System Ltd, Великобритания). Температура варьировалась в диапазоне 25–70 °С, с шагом 5 °С и с выдержкой при заданной температуре в течение 5 мин. Время накопления детектируемого сигнала составляло 500 мс. Абдоминальная жировая ткань человека изучалась *in vitro*. После замораживания образцы разрезали на тонкие ломтики (толщиной 0,5 ± 0,2 мм). Толщина образцов измерялась микрометром в несколь-

ких точках образца, зажато́го между двумя покровными стеклами. Толщина усреднялась по 5 точкам. Жировая ткань помещалась на черную поверхность в процессе нагревания.

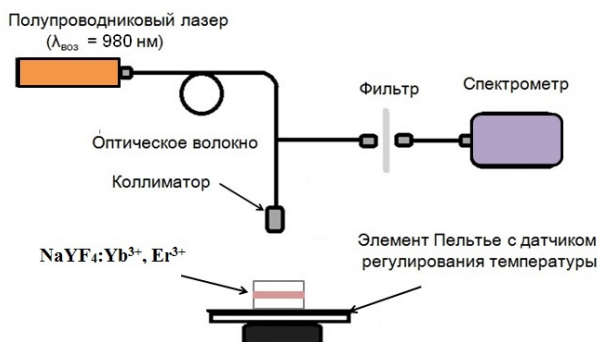


Рис. 2. Схема экспериментальной установки для измерения температурных зависимостей интенсивностей люминесценции АКНЧ ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$)

Температурные зависимости спектров люминесценции АКНЧ ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$) изображены на рис. 3.

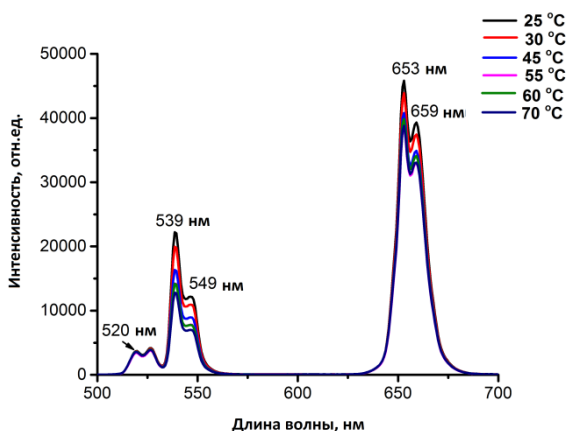


Рис. 3. Температурные зависимости интенсивностей люминесценции АКНЧ

В соответствии со ссылкой [6] для измерения локальной температуры наночастиц нами были рассчитаны значения натурального логарифма отношений интенсивностей люминесценции АКНЧ на длинах волн $\lambda_1 = 549 \text{ нм}$ и $\lambda_2 = 520 \text{ нм}$. При последующей передаче энергии от Yb^{3+} к Er^{3+} происходит переход акцептора на уровень $^4\text{F}_{7/2}$

с последующей безызлучательной релаксацией на уровни $^4S_{3/2}$ и $^2H_{11/2}$. При последующем излучательном переходе в основное состояние возникает люминесценция в зеленой области спектра (рис. 4). В случае перехода Er^{3+} из состояния $^4F_{9/2}$ в основное состояние возникает люминесценция в красной области спектра. Люминесценция пропорциональна заселенности возбужденного уровня, и в данном случае отношение интенсивностей описывается тепловым равновесием заселенностей близко расположенных возбужденных уровней, в соответствии с законом Больцмана:

$$I_1(\lambda_1)/I_2(\lambda_2) = C \exp(-\Delta E/kT), \quad (1)$$

где $I_1(\lambda_1)/I_2(\lambda_2)$ – отношение пиков интенсивности спектра люминесценции на разных длинах волн (в наших экспериментах $\lambda_1 = 549$ нм и $\lambda_2 = 520$ нм); C – нормировочный множитель ($C = \text{const}$), определяемый степенью вырождения заселенности энергетических уровней, скоростью спонтанного излучения и энергией излучаемого фотона, ΔE – величина энергетической щели между двумя возбужденными уровнями, равная $\Delta E = h\Delta\nu = ch/\Delta\lambda$, где c – скорость света, h – постоянная Планка, k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура.

Соответственно, при аппроксимации температурных зависимостей в виде $\ln(I_1/I_2) = \ln C - \Delta E/kT = A + B \cdot T$ чувствительность определения температуры должна быть обусловлена величиной энергетического зазора.

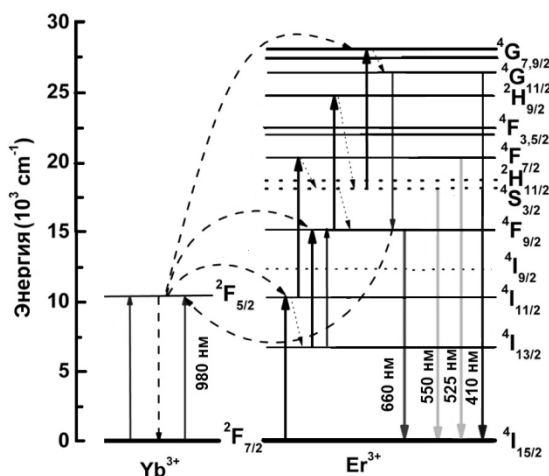


Рис. 4. Температурные зависимости интенсивностей люминесценции АКНЧ

На рис. 5 представлены полученные зависимости для образцов, накрытых жировой тканью.

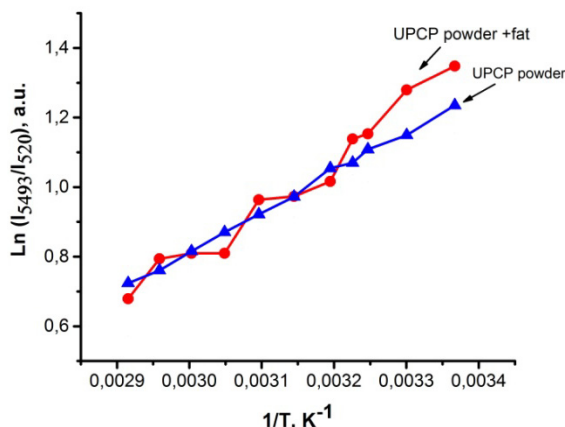


Рис. 5. Температурные зависимости натурального логарифма отношений интенсивностей люминесценции частиц ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}$, Er^{3+}) на длинах волн $\lambda_1 = 549$ нм и $\lambda_2 = 520$ нм

Значения углов наклона аппроксимирующих прямых на рис. 5 для сфокусированного, расфокусированного лазерных пучков и полученные из теоретических расчетов представлены в таблице.

Значения углов наклона аппроксимирующих прямых для сфокусированного, расфокусированного лазерных пучков и полученные из теоретических расчетов

Наименование	Порошок $\text{Ln} (I_{\lambda 549} / I_{\lambda 520})$	Теоретический расчет
А	-2,63	
В	1148,5	990,0

Оптические параметры биологической ткани на протяжении одного фазового состояния не меняются; при фазовом переходе они скачкообразно изменяют, в частности, показатель преломления [7]. Увеличение интенсивности люминесценции при высоких температурах можно объяснить оптическим просветлением тканей, связанным с фазовым переходом липидов. Это видно, например, из температурной зависимости интенсивности люминесценции наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}$, Er^{3+} , представленной на рис. 6.

После первого фазового перехода (35–40 °С) жировой ткани температурные зависимости для порошка и порошка, накрытого жировой тканью, практически совпадают.

Отношение интенсивностей люминесценции, прошедшей через слой жира и полученной непосредственно от образца с наночастицами, должно характеризовать изменение рассеивающих свойств жировой ткани при изменении температуры. Так как рассеяние уменьшается с ростом длины волны, нами рассмотрены такие зависимости для двух длин волн: 539 и 653 нм. Как видно из рис. 6, на длинах волн $\lambda_1 = 539$ нм и $\lambda_2 = 653$ нм фазовый переход жировой ткани при температуре, равной 55 °С, выражен слабо. В то же время наблюдаются три фазовых перехода (при температуре 35, 55 °С и при 60 °С). Результат можно объяснить высокими рассеивающими свойствами АКНЧ.

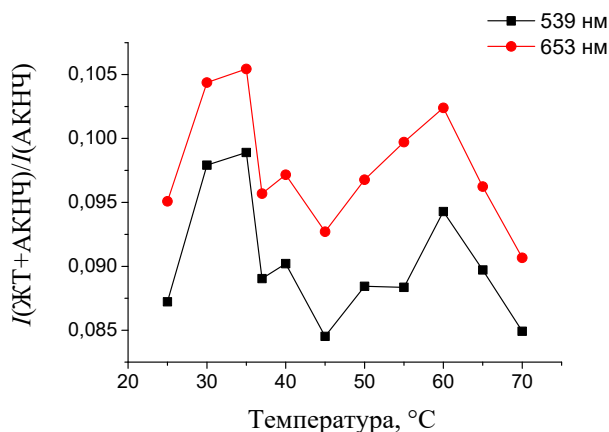


Рис. 6. Температурная зависимость отношения интенсивностей люминесценции при 539 (■) и 653 нм (●) для образцов АКНЧ со слоем жировой ткани (ЖТ); толщина слоя жировой ткани составляла 0,2 мм

Изменения рассеяния при фазовых переходах наблюдаются также непосредственно в температурных зависимостях интенсивности люминесценции, полученной в эксперименте (рис. 7). На рисунке совмещены зависимости, полученные для люминесценции и коллимированного пропускания образца жировой ткани (T_c). Видно резкое изменение хода зависимости коллимированного пропускания в области 55–60 °С. Синхронно изменяется и интенсивность люминесценции. В то же время фазовый переход в области 30–35 °С достаточно ясно виден на зависимостях для люминесценции.

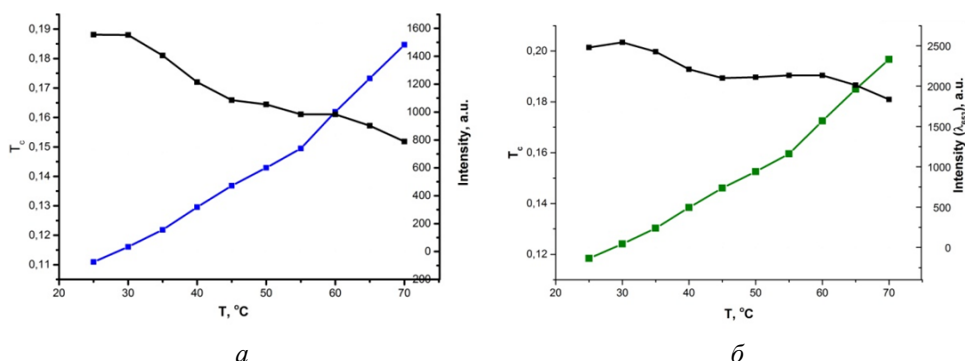


Рис. 7. Температурные зависимости коллимированного пропускания T_c образца жировой ткани и интенсивностей люминесценции АKNЧ под слоем жировой ткани для длин волн 539 (а) и 653 нм (б) соответственно

В результате экспериментов показана возможность одновременной регистрации температуры наночастиц, внедренных в жировой слой и обусловленных температурой фазовых переходов в слое жира. Наиболее хорошо регистрируется высокотемпературный переход

Список литературы

1. Functional and multifunctional nanoparticles for bioimaging and biosensing / S.T. Selvan, T.T.Y. Tan, D.K. Yi, N.R. Jana // *Langmuir*. – 2010. – Vol. 26, № 14. – P. 11631–11641.
2. Сагайдачная Е.А., Янина И.Ю., Кочубей В.И. Перспективы применения апконверсионных частиц $\text{NaYF}_4:\text{Er}, \text{Yb}$ для фототерапии // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика*. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 253–274.
3. Zhang F. Photon upconversion nanomaterials // Berlin, Heidelberg: Springer, 2016. – 416 p.
4. Du P., Luo L., Yu J.S. Facile synthesis of $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ -codoped NaYF_4 nanoparticles: a promising multifunctional upconverting luminescent material for versatile applications // *RSC Advances*. – 2016. – Vol. 6, № 97. – P. 94539–94546.
5. Comparative study on upconversion luminescence and temperature sensing of α - and β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ nano-/micro-crystals derived from a microwave-assisted hydrothermal route // L. Tong, X. Li, R. Hua, X. Li, H. Zheng, J. Sun, J. Zhang, L. Cheng, B. Chen // *J. Lumin.* – 2015. – Vol. 167. – P. 386–390.

6. CdSe quantum dots for two-photon fluorescence thermal imaging / L.M. Maestro, E.M. Rodríguez, F.S. Rodríguez, M.C. Cruz, A. Juarranz, R. Naccache, F. Vetrone, D. Jaque, J.A. Capobianco, J.G. Solé // *Nano Lett.* – 2010. – Vol. 10, № 12. – P. 5109–5115.

7. Detection of phase transition of a biological membrane by precise refractive-index measurement based on the low coherence interferometry / M. Haruna, K. Yoden, M. Ohmi, A. Seima // *Proc. SPIE.* – 2000. – Vol. 3915. – P. 188–193.

References

1. Selvan S.T., Tan T.T.Y., Yi D.K., Jana N.R. Functional and multifunctional nanoparticles for bioimaging and biosensing. *Langmuir*, 2010, vol. 26, no. 14, pp. 11631–11641.

2. Sagaidachnaia E.A., Ianina I.Iu., Kochubei V.I. Perspektivy primeneniia apkonverzionnykh chastits NaYF₄:Er,Yb dlia fototerapii [Prospects for the use of NaYF₄:Er,Yb upconversion particles for phototherapy]. *Izvestiia Saratovskogo universiteta*, 2018, vol. 18, no. 4, pp. 253–274.

3. Zhang F. Photon upconversion nanomaterials. Berlin, Heidelberg, Springer, 2016, 416 p.

4. Du P., Luo L., Yu J.S. Facile synthesis of Er³⁺/Yb³⁺-codoped NaYF₄ nanoparticles: a promising multifunctional upconverting luminescent material for versatile applications. *RSC Advances*, 2016, vol. 6, no. 97, pp. 94539–94546.

5. Tong L., Li X., Hua R., Li X., Zheng H., Sun J., Zhang J., Cheng L., Chen B. Comparative study on upconversion luminescence and temperature sensing of α - and β -NaYF₄: Yb³⁺/Er³⁺ nano-/micro-crystals derived from a microwave-assisted hydrothermal route. *J. Lumin.*, 2015, vol. 167, pp. 386–390.

6. Maestro L.M., Rodríguez E.M., Rodríguez F.S., Cruz M.C., Juarranz A., Naccache R., Vetrone F., Jaque D., Capobianco J.A., Solé J.G. CdSe quantum dots for two-photon fluorescence thermal imaging. *Nano Lett.*, 2010, vol. 10, no. 12, pp. 5109–5115.

7. Haruna M., Yoden K., Ohmi M., Seima A. Detection of phase transition of a biological membrane by precise refractive-index measurement based on the low coherence interferometry. *Proc. SPIE*, 2000, vol. 3915, pp. 188–193.

Сведения об авторах

ЯНИНА И.Ю.

e-mail: irina-yanina@yandex.ru

Кандидат физико-математических наук, доцент кафедры «Оптика и биофотоника», Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, старший научный сотрудник Лаборатории лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

КОЧУБЕЙ В.И.

e-mail: saratov_gu@mail.ru

Доктор физико-математических наук, профессор кафедры «Оптика и биофотоника» Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, главный научный сотрудник Лаборатории лазерного молекулярного имиджинга и машинного обучения, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

About the authors

YANINA I.Yu.

e-mail: irina-yanina@yandex.ru

Ph. D. in Physical and Mathematical Sciences, Ass. Professor, Saratov National Research State University, Saratov, Senior Research Fellow, Laboratory for Laser Molecular Imaging and Machine Learning of National Research Tomsk State University, Tomsk

KOCHUBEY V.I.

e-mail: saratov_gu@mail.ru

Ph.D. in Physical and Mathematical Sciences, Professor, Saratov National Research State University, Saratov, Chief Researcher, Laboratory for Laser Molecular Imaging and Machine Learning of National Research Tomsk State University, Tomsk

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-72-10057, <https://rscf.ru/project/21-72-10057/>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов равноценен.

Получена: 11.09.2023

Одобрена: 15.09.2023

Принята к публикации: 16.09.2023

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-72-10057, <https://rscf.ru/project/21-72-10057/>.

Conflict of Interest. The author declare no conflict of interest.

The contribution of the author 100 %.

Received: 11/09/2023

Approved: 15/09/2023

Accepted for publication: 16/09/2023

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Янина, И.Ю. Применение апконверсионных наночастиц в качестве термодатчика для биоткани / И.Ю. Янина, В.И. Кочубей // Прикладная фотоника. – 2023. – Т. 10, № 6. – С. 5–16.

Please cite this article in English as: Yanina I.Yu., Kochubey V.I. Application of upconversion nanoparticles as a thermal sensor for biological tissue // Applied photonics, 2023, no. 6, pp. 5-16.