

Трифанова Екатерина Максимовна

**Спектральное преобразование лазерного излучения
биосовместимыми матричными структурами**

2.2.2. Электронная компонентная база
микро- и нанoeлектроники, квантовых устройств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Институте фотонных технологий РАН Федерального государственного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук»

Научный руководитель:

доктор физико-математических наук,
г.н.с. лаборатории сверхкритических флюидных технологий
Попов Владимир Карпович
Институт фотонных технологий РАН
Федерального государственного учреждения
«Федеральный научно-исследовательский центр
«Кристаллография и фотоника» Российской академии наук»

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук, г.н.с.
Барабаненков Михаил Юрьевич
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов
Российской академии наук (ИПТМ РАН)

доктор физико-математических наук, профессор
Зимняков Дмитрий Александрович
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А.»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН)

Защита диссертации состоится “6” декабря 2023 г. В 14 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета 24.1.245.02 на базе ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН в ИПЛИТ РАН – филиале ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН по адресу: 140700, Московская обл., г. Шатура, ул. Святоозерская, д.1. Круглый зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИПЛИТ РАН - филиала ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, а также на сайте www.laser.ru

Автореферат разослан “ ” _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.245.02
кандидат физико-математических наук

Р.В. Гришаев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Разработка принципиально новых элементов и устройств эффективного преобразования оптического излучения из одного диапазона длин волн в другой является одним из ключевых направлений развития квантовой электроники и оптической техники. В основе таких устройств лежат хорошо изученные физические явления и процессы, к числу которых, в первую очередь, следует отнести фотолюминесценцию, спонтанное и вынужденное комбинационное рассеяние света, нелинейно-оптическую генерацию гармоник и параметрическое смешение частот, а также различные квантово-размерные и многофотонные эффекты. Предметом настоящей диссертационной работы является решение задачи эффективного спектрального преобразования лазерного излучения биосовместимыми матричными структурами с использованием наноразмерных апконвертирующих фосфоров (НАФ) [1]. В результате процесса последовательного заселения высокоэнергетических уровней редкоземельных ионов, входящих в структуру НАФ, эти наночастицы позволяют преобразовывать лазерное излучение из области $0,9 \div 2,5$ мкм (SWIR диапазон) в фотолюминесценцию в УФ, видимом и ближнем ИК диапазонах с высоким (до 10%) коэффициентом конверсии излучения. Благодаря своим уникальным свойствам НАФ обладают узкими полосами фотолюминесценции и ее большими (до нескольких сотен нанометров) частотными сдвигами по отношению к возбуждающему излучению [2], химической и фотостабильностью [3], и, как следствие, могут служить эффективными компонентами систем мультимодальной оптической диагностики различных процессов и объектов [4]. Эти наночастицы идеально подходят как для приповерхностной, так и для глубокой оптической визуализации живых тканей в ближнем ИК диапазоне (700-1000 нм) в так называемых “окнах прозрачности биотканей” [5]. Возможность регистрации оптического сигнала в более коротковолновой (по сравнению с длиной волны возбуждения) области спектра позволяет исключить вклад автолюминесценции исследуемых объектов [6]. Детектирование и анализ нелинейно зависящей от интенсивности возбуждения антистоксовой фотолюминесценции НАФ являются необходимыми для разработки и реализации новых технологий оптического биоимиджинга с высоким пространственным разрешением. Все это открывает широкие перспективы для дальнейшего развития современной биомедицины, в частности таких ее направлений, как терапевтическое воздействие лазерного излучения на различные биоткани и оптическая диагностика происходящих в них процессов в реальном масштабе времени. Однако, на сегодняшний день однозначных количественных данных об изменениях фотолюминесцентных свойств НАФ как при их внедрении в биосовместимые матричные структуры, так и при биодеградации последних явно недостаточно. Все это и обуславливает актуальность темы диссертационной работы.

Практическая значимость диссертационной работы связана с активным использованием в настоящее время разнообразных неинвазивных методов визуализации и диагностики различных тканей и органов организма человека и животных, а также происходящих в них процессов в реальном масштабе времени. Эти методы играют огромную роль как в проведении передовых биомедицинских исследований, так и в повседневной клинической практике, имеющей большую социальную значимость. Рентгеновская и компьютерная томография, позитронно-эмиссионная, однофотонная эмиссионная и магнитно-резонансная томографии, а также ультразвуковая, оптическая, и мультимодальная визуализации [7] позволяют сегодня решать широкий круг важнейших фундаментальных и прикладных задач. Оптические методы визуализации, основанные на фотолюминесценции, имеют ряд преимуществ над другими методами визуализации. Они интуитивно понятны и используют безопасные для организма диапазоны излучения [8]. Также оптическая визуализация может быть применена неинвазивно и позволяет одновременно изучать несколько процессов в одном объекте, что делает эту методику экономически выгодной и дает возможность получить более полное представление о функционировании живых систем [9]. Поэтому развитие и дальнейшее совершенствование этих и подобных им методов на основе и с привлечением новой компонентой базы является чрезвычайно актуальной задачей.

Современные материалы и методы тканевой инженерии позволяют создавать тканеинженерные конструкции (ТИК) для эффективного замещения дефектов нативных тканей организма человека и животных, а также для их направленной регенерации [10]. Основой таких биомедицинских изделий являются трехмерные биосовместимые матрицы, обеспечивающие эффективное прикрепление, дифференцировку и пролиферацию различных клеточных культур и, по сути, представляющие собой элементы передовой технологической платформы для изготовления так называемых “умных матриц” (smart scaffolds) [11]. Имплантируемые матрицы должны иметь физико-химические и биохимические характеристики, максимально приближенные к нативным тканям реципиента. Поэтому сегодня для этих целей широко применяются полимеры природного происхождения, такие как коллаген и гиалуроновая кислота.

Как правило, контроль состояния и функционирования ТИК внутри организма требует вывода из эксперимента используемых лабораторных животных в определенные промежутки времени для удаления этих матриц вместе с прилегающими тканями с целью их дальнейшего морфологического исследования [12]. Отсутствие возможности высококонтрастной прижизненной визуализации ТИК и окружающих их биотканей значительно усложняют проведение подобных исследований состояния ТИК внутри организма. Фотолюминесцентные характеристики НАФ, в принципе, позволяют не только реализовывать и совершенствовать процессы высококонтрастной визуализации гибридных биосовместимых структур и нативных

тканей *in vivo*, но также позволяют использовать их для элементов компонентной базы высокотехнологичного оборудования для современного биоимиджинга.

Цель и задачи

Целью настоящей работы является изучение процессов спектрального преобразования лазерного излучения наноразмерными апконвертирующими фосфорами, распределенными в биосовместимых полимерных матриксах, изготовленных различными методами, а также исследование изменения их фотолюминесцентных характеристик в процессе взаимодействия с живыми объектами (клетками и биотканями).

Для достижения поставленных целей необходимо было решить следующие задачи:

- Изучить оптические характеристики НАФ $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$ и их коллоидных растворов в полярных и неполярных растворителях;
- Исследовать зависимости физико-химических свойств НАФ в зависимости от их размеров, состава, наличия или отсутствия у них оболочек разных толщин;
- Исследовать спектры фотолюминесценции разработанных матриксов на основе коллагена, гиалуроновой кислоты и алифатических полиэфиров, импрегнированных НАФ, а также процессы их преобразования в условиях *in vitro* и *in vivo*.
- Разработать процесс формирования и стабилизации пространственной структуры коллагеновых матриксов;
- Разработать и изготовить экспериментальные образцы биорезорбируемых матриксов на основе различных полимеров природного и синтетического происхождения, импрегнированных НАФ, и исследовать возможность их применения для решения задач тканевой инженерии;
- Разработать новые подходы к визуализации и диагностике тканеинженерных конструкций и происходящих с ними процессов *in vivo* в реальном масштабе времени.

Научная новизна

Научная новизна диссертационной работы состоит в следующем:

1. Впервые экспериментально исследовано преобразование лазерного излучения ближнего ИК диапазона в фотолюминесценцию видимого и УФ диапазонов различными НАФ, инкапсулированными в коллагеновые матриксы, изготовленные методом электроспиннинга.
2. Разработан процесс химической стабилизации структуры и механических свойств коллагеновых матриксов, изготовленных методом электроспиннинга, который, с одной стороны, позволяет контролировать скорость их биодеградации *in vitro* и *in vivo*, а с другой - не влияет на фотолюминесцентные свойства содержащихся в них НАФ, что позволит использовать такие матриксы для высококонтрастной визуализации.
3. Впервые показано, что биодегградация полимерных матриксов в условиях *in vitro* приводит к изменению соотношения интенсивностей «красного» (в области 658 нм) и «зеленого» (в

области 544 нм) пиков фотолюминесценции инкапсулированных в них НАФ, что дает возможность изучать кинетику этих процессов в режиме реального времени.

4. Установлено, что фотолюминесцентные свойства высокопористых матриц, импрегнированных НАФ, изменяются в зависимости от их микроокружения, что позволяет осуществлять не только высококонтрастную визуализацию коллагеновых, полиэфирных и гиалуроновых структур в фантомах биологических тканей организма, но и проводить их мониторинг *in vivo* в реальном масштабе времени.

Практическая значимость

1. Разработан процесс экструзионной 3D печати с последующим фотоотверждением биосовместимых матриц на основе глицидил метакрилата гиалуроновой кислоты, импрегнированной НАФ, и изучены их оптические характеристики.
2. Разработан процесс электроспиннинга биорезорбируемых матриц на основе коллагена и полилактогликолида, импрегнированных НАФ, и изучены их фотолюминесцентные свойства.
3. Разработан процесс химической стабилизации структуры и механических характеристик коллагеновых матриц.
4. Реализована дистанционная визуализация высокопористых матриц, содержащих НАФ, из коллагена, гиалуроновой кислоты и алифатических полиэфиров в фантомах биологических тканей организма *in vitro*, имитирующих условия в живой ткани *in vivo*.
5. С помощью МТТ-теста, световой и конфокальной флуоресцентной микроскопии исследована цитотоксичность коллагеновых, полиэфирных и гиалуроновых матриц, импрегнированных НАФ, и показана их высокая биосовместимость.
6. Изучено спектральное преобразование лазерного излучения биосовместимыми матрицами, импрегнированными НАФ, с использованием *in vivo* модели их подкожной имплантации самкам мышей линии BALB/c.

Полученные в работе данные и экспериментальные результаты могут быть использованы для разработки новых подходов к оптической визуализации и диагностике тканеинженерных конструкций и “умных матриц”, а также для мониторинга происходящих с ними процессов *in vivo* в реальном масштабе времени.

Положения, выносимые на защиту

1. Высокопористые коллагеновые, полиэфирные и гиалуроновые матрицы, импрегнированные НАФ $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$, позволяют проводить эффективное преобразование лазерного излучения из ближнего ИК в видимый диапазон длин волн.
2. НАФ на основе кристаллической решетки $\alpha\text{-NaYbF}_4$ за счет резонансного расселения уровней ионов Er^{3+} (выше $^4\text{I}_{13/2}$) при взаимодействии с ионами Ce^{3+} в концентрации 2 моль.% могут использоваться в качестве фотолюминесцентных наномаркеров в диапазоне длин волн от 650 до 1000 нм.

3. Химическая стабилизация структуры и механических свойств коллагеновых матрицков, изготовленных методом электроспиннинга, с одновременным добавлением диглицидового эфира 1,4-бутанодиола (ДГЭБ) в исходный раствор и использованием растворов изопропанола с 15 масс.% ДГЭБ, позволяет не только контролировать скорость их биодegradации *in vitro* и *in vivo* (от нескольких часов до нескольких недель), но и не влияет на фотолюминесцентные характеристики содержащихся в них НАФ.
4. Высвобождение наноразмерных апконвертирующих фосфоров $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$ из полимерных матрицков в окружающую среду в ходе гидролитической degradation последних вызывает изменение соотношения интенсивностей «красного» (в области 658 нм) и «зеленого» (в области 544 нм) пиков фотолюминесценции НАФ, что позволяет изучать кинетику этих процессов в режиме реального времени.
5. Полимерные матрицксы, импрегнированные НАФ $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$, не проявляют выраженной острой цитотоксичности, а физико-химические свойства их поверхности и объемной структуры обеспечивают требуемые условия для эффективного прикрепления, пролиферации и дифференцировки клеток, необходимые для направленной регенерации биотканей.

Личный вклад автора

В диссертации представлены результаты исследований, выполненных автором лично либо при его активном участии, в период с 2018 по 2023 гг. Личный вклад автора в диссертационную работу состоит в анализе литературы, подготовке аналитического и измерительного оборудования, сборке экспериментальных установок, отладке их работы, проведении собственных экспериментов по измерению фотолюминесцентных свойств наночастиц, изготовлению фантомов и фотолюминесцентных матрицков, подбору оптимальных параметров процессов электроспиннинга, изучению изменения фотолюминесценции в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, а также обработке, анализе и оформлении полученных результатов в виде научных докладов и публикаций.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность изложенных в диссертационной работе результатов подтверждается независимыми физическими экспериментами, согласованием полученных результатов с результатами других исследований, систематическим характером проведенных исследований, использованием современной аппаратуры и методов исследования.

Основные результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях: II Всероссийский форум научной молодежи «Богатство России» (Москва, 2018), X Научно-практическая конференция с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (Ростов-на-Дону, 2019), IV Национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, 2019), VIII Всероссийская научная молодежная

школа-конференция «Химия, физика, биология: пути интеграции» (Москва, 2020), VII Троицкая конференция с международным участием «Медицинская физика» (Троицк, 2020), Международный форум «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2020), Vth Sechenov International Biomedical Summit (Москва, 2021), Школа-конференция с международным участием по оптоэлектронике, фотонике и нанобиоструктурам SaintPetersburg OPEN (Санкт-Петербург, 2022), IX Всероссийская научная молодежная школа-конференция "Химия, физика, биология: пути интеграции" (Москва, 2022), 9th Nanotech & Nanomaterials Research Conference (Rome, 2023).

Исследования поддерживались грантом РФФИ «Трансформации спектров флуоресценции нанофосфоров биосовместимыми матричными структурами» № 20-32-90218_Аспиранты (руководитель Попов В.К.).

Материалы, изложенные в диссертации, опубликованы в 8 статьях в рецензируемых журналах из перечня ВАК и 13 публикаций в сборниках трудов конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, пяти глав и заключения. Работа содержит 129 страниц печатного текста, 52 рисунка и 7 таблиц. В библиографическом списке содержится 196 ссылок на источники.

Краткое содержание работы

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, показано её научно-практическое значение, сформулирована цель и поставлены задачи исследования.

Глава 1 содержит литературный обзор по теме диссертации. Рассмотрены фотолюминесцентные органические и неорганические наномаркеры, применяемые сегодня для оптической визуализации биообъектов в тканевой инженерии, а также сравнительный анализ их преимуществ и недостатков. Также рассмотрены различные типы апконвертирующих нанофосфоров, их фотолюминесцентные свойства и конкретные биомедицинские применения. Показано, что фотолюминесцентные свойства НАФ напрямую зависят от входящих в их структуру легирующих ионов, состава кристаллической матрицы, наличия или отсутствия оболочки и микроокружения наночастиц.

В **Главе 2** рассмотрены НАФ β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$, синтезированные методом термического разложения фторидных прекурсоров в среде высококипящих растворителей сотрудниками ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН [13]. В работе использованы наночастицы двух типов в двух размерных диапазонах: тип I - диаметром 13 нм - и тип II - диаметром 265 нм. Оба типа НАФ покрывались инертной оболочкой NaYF_4 толщиной 3 нм и 45 нм, соответственно. Исследованы интенсивность, время жизни и коэффициенты конверсии излучения синтезированных НАФ. Экспериментально показано, что интенсивность

фотолюминесценции наночастиц с оболочкой заметно выше по сравнению с наночастицами со структурой только «ядро» для всех типов исследуемых образцов (Рисунок 1а).

Проведено сравнительное исследование зависимости интенсивности фотолюминесценции в окрестностях длин волн 544 и 658 нм для наночастиц I и II типа при наличии и при отсутствии инертной оболочки от плотности мощности возбуждающего излучения. Увеличение плотности мощности возбуждающего излучения ведет к заселению более высоких уровней Er^{3+} (${}^4\text{G}_{11/2}$ и ${}^4\text{G}_{7/2}$), для которых существует большая вероятность безызлучательного перехода на уровень ${}^4\text{F}_{9/2}$, чем перехода на уровни ${}^2\text{H}_{11/2}/{}^4\text{S}_{3/2}$ [14] (Рисунок 1б).

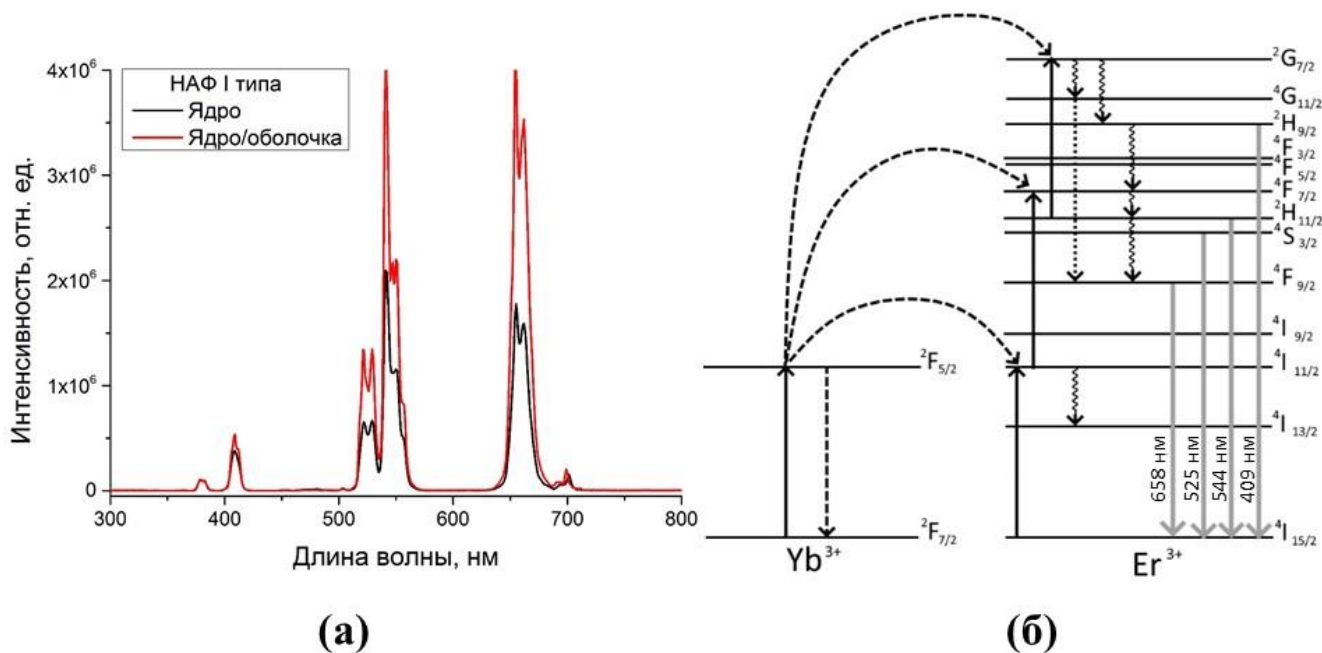


Рисунок 1 - Спектр фотолюминесценции НАФ I типа (а) и диаграмма энергетических уровней НАФ $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$ (б).

Измерены времена жизни фотолюминесценции наночастиц на длинах волн 409, 525, 544 и 658 нм. При увеличении размеров наночастиц время жизни их фотолюминесценции увеличивается, что обусловлено уменьшением отношения площади поверхности к объему наночастиц и ростом содержания в объемах наночастиц ионов лантаноидов [15]. С помощью установки на основе интегрирующей сферы и лавинного фотодиода (использовавшегося в качестве фотоприемника) определены интегральные коэффициенты конверсии (КК) интенсивности возбуждающего ИК излучения на длине волны 976 нм в излучение видимого диапазона для всех типов наночастиц. Интегральный КК определяется как отношение мощности фотолюминесценции НАФ к мощности поглощенного излучения [16]. Его можно рассчитать по следующей формуле:

$$\eta = \frac{I_{\text{нафлюм}}}{I_{976} - I_{\text{НАФ}976}}; \quad (1)$$

где $I_{\text{нафлюм}}$ – интенсивность фотолюминесценции образца, I_{976} – интенсивность лазерного излучения в отсутствие поглощения, $I_{\text{НАФ}976}$ – интенсивность лазерного излучения, рассеянная

образом. Интегральный КК определялся для всех длин волн фотолюминесценции НАФ в видимом диапазоне спектра (380 – 780 нм).

Наночастицы типа II со структурой «ядро/оболочка» обладают более высоким интегральным коэффициентом конверсии (~11,5%) по сравнению с НАФ типа II со структурой «ядро» (~1,15%) при плотности мощности лазерного излучения 450 Вт/см² и выше. Интегральный КК излучения НАФ типа I в режиме насыщения также увеличивается для наночастиц с оболочкой и составляет 0,09% и 0,18% для структур «ядро» и «ядро/оболочка», соответственно. Такое увеличение коэффициентов конверсии излучения у НАФ со структурой «ядро/оболочка» объяснено особенностями методики их формирования, а также тем, что наличие инертной оболочки на поверхности нанокристаллов позволяет экранировать активные центры от влияния различных тушащих факторов.

Для решения задач прижизненной визуализации важно определить оптимальный размер наночастиц, при котором наблюдается резкий рост коэффициента конверсии излучения при увеличении плотности мощности возбуждающего излучения. Это необходимо для разработки неинвазивных методов прижизненной визуализации организма, так как это позволит использовать наночастицы, которые легко проникают в живые ткани и при этом имеют высокий коэффициент конверсии излучения, достаточный для проведения визуализации. Поэтому также были изучены фотолюминесцентные свойства НАФ β -NaYF₄:Yb³⁺,Er³⁺/NaYF₄ III типа со структурой «ядро/оболочка» с характерным диаметром частиц 21 ± 6 нм и толщиной оболочки 1,2 нм. В режиме насыщения эти НАФ имеют более высокие значения КК излучения, чем НАФ I типа (0,36% и 0,18% соответственно). Размер наночастиц различается всего на 10% (19 и 21 нм с учетом оболочек), однако значения интегрального КК излучения увеличиваются в 2 раза. Вышеописанные преимущества НАФ III типа делают их наиболее подходящими для дальнейших исследований и инкапсуляции в полимерные матриксы.

В **Главе 3** приведен литературный обзор основных существующих сегодня видов фантомов, имитирующих биологические ткани, проведен сравнительный анализ их преимуществ и недостатков, а также показаны результаты экспериментов по исследованию оптических свойств фантомов. Оптимальным материалом для фантомов выбрана агароза. И хотя полутвердые фантомы менее стабильны, чем твердые, их гораздо легче и быстрее изготовить, а следовательно, при необходимости проще изменить их состав.

Далее представлен процесс изготовления фантомов на основе агарозы и эксперименты по определению их коэффициентов пропускания и диффузного отражения оптического излучения, а также экстинкции. Исследованы амплитудно-частотные изменения спектров фотолюминесценции НАФ β -NaYF₄:Yb³⁺:Er³⁺/(NaYF₄) со структурой ядро/оболочка и средним размером 21 ± 6 нм при прохождении излучения сквозь фантом. В качестве модельного рассеивающего вещества для фантомов I типа использовалось ультрапастеризованное коровье молоко 3,5% жирности в двух

концентрациях – 5 и 10 масс.% от массы раствора агарозы. В качестве модельного поглощающего вещества для фантомов II типа использовался меланин – 0,5 и 1 масс.% от массы раствора агарозы. Фантомы каждого типа имели толщины 1 и 2 мм. С помощью установки с двумя интегрирующими сферами (Рисунок 2) определены частотные зависимости коэффициентов диффузного рассеяния R_d , диффузного пропускания T_d и коллимированного пропускания T_c с использованием следующих соотношений [17]:

$$R_d = \frac{I_1}{I_{01}}; T_d = \frac{I_2}{I_{01}}; T_c = \frac{I_z}{I_{0z}}; \quad (2)$$

где I_{01} - интенсивность излучения в сфере 1 при условии, что вместо образца стоит заглушка, покрытая стандартным диффузно рассеивающим материалом, I_1 – интенсивность излучения в сфере 1 в присутствии образца, I_2 – интенсивность в сфере 2 в присутствии образца, I_{0z} – интенсивность излучения на выходе из сферы 2 в отсутствии образца, I_z – интенсивность излучения на выходе из сферы 2 с образцом.

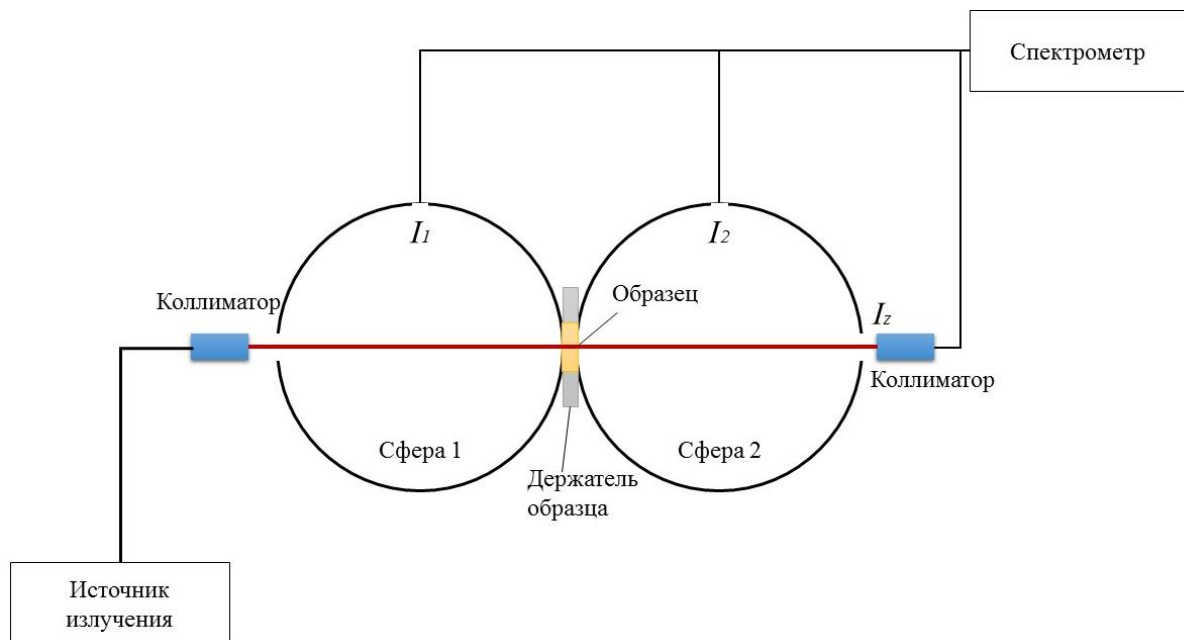


Рисунок 2 - Схема установки для определения оптических характеристик фантомов.

Показано, что на длине волны 544 нм этот коэффициент имеет большее значение, чем на длинах волн 658 нм и 976 нм, и монотонно растет с увеличением концентрации модельного вещества.

На рисунке 3а показаны коэффициенты пропускания T фантомов в зависимости от длины волны. Коэффициент пропускания T уменьшается как при увеличении концентрации модельного вещества, так и при увеличении толщины фантома. В видимом диапазоне это не так выражено для фантомов I типа, в отличие от фантомов II типа.

Предварительно НАФ инкапсулировались в полилактогликолидные матрицы диаметром 5 мм и толщиной 1 мм в соотношении 1 мг на 100 мг полимера. Рассчитаны отношения (R/G) интенсивности «красного» пика на длине волны 658 нм (R) к интенсивности «зеленого» пика на

длине волны 544 нм (G) НАФ, инкапсулированных в матрикс, в зависимости от типа фантома, его толщины и концентрации модельного вещества, в котором он находится. Показано, что при увеличении как толщины, так и концентрации модельного вещества отношения интенсивности фотолюминесценции «красного» пика 658 нм к интенсивности «зеленого» на длине волны 544 нм НАФ увеличиваются при одной и той же плотности мощности возбуждающего излучения (Рисунок 3б).

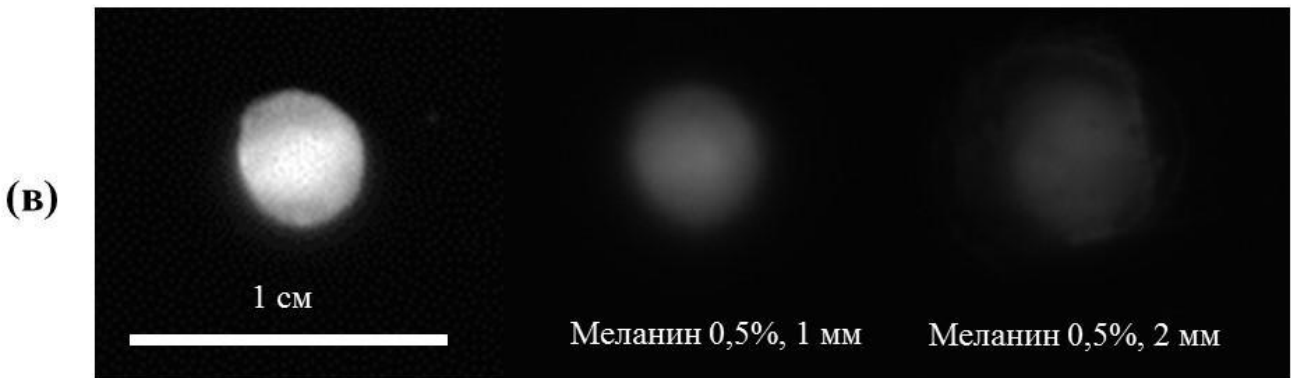
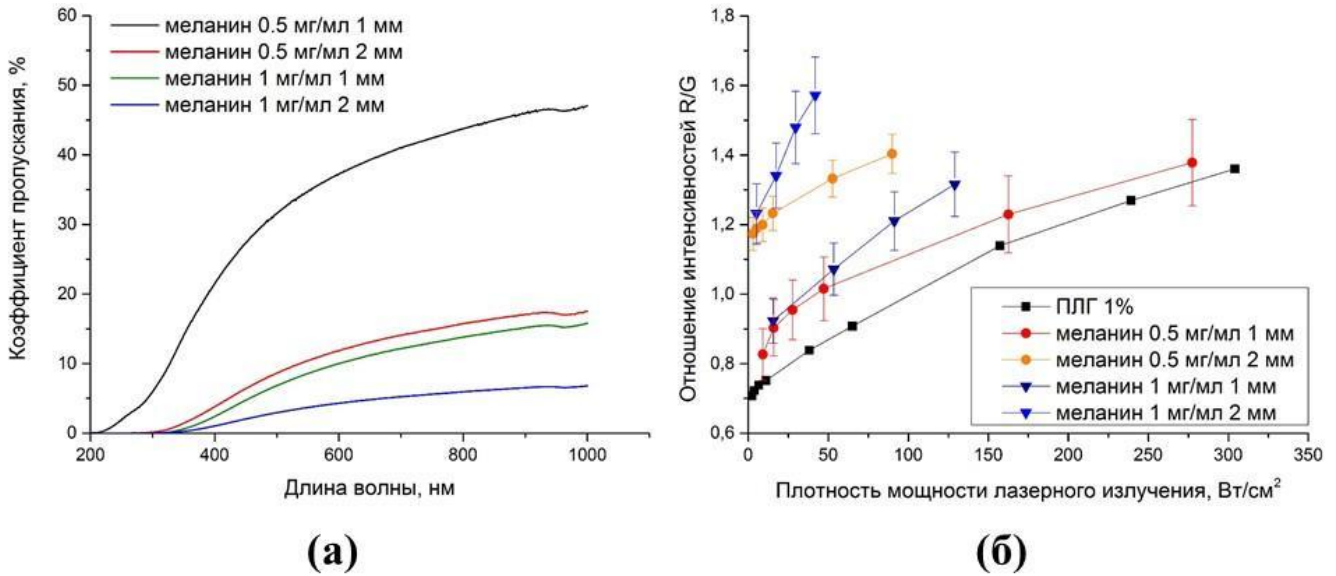


Рисунок 3 - Коэффициент пропускания фантомов II типа (а), зависимость отношения интенсивности фотолюминесценции «красного» пика 658 нм к интенсивности «зеленого» на длине волны 544 нм НАФ, внедренных в ПЛГ матрикс от плотности мощности лазерного излучения сквозь фантомы II типа (б) и фотографии исходного матрикса и его визуализация сквозь фантомы II типа с добавлением 0,5% меланина (в).

Изучено изменение спектров фотолюминесценции матриксов при их визуализации в видимом диапазоне. Показано, что за счет рассеяния излучения не только снижается интегральная интенсивность регистрируемого сигнала, но и само изображение образца становится менее четким (Рисунок 3в).

Глава 4 посвящена анализу свойств наночастиц, синтезированным сотрудниками ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН [18], имеющих в основе кристаллическую решетку α - NaYbF_4 , легированную ионами Er, Ce и Zn в концентрациях 2, 2 и 1 мол.%, соответственно, и имеющих интенсивные линии фотолюминесценции в антистоксовой (~650 нм) и стоксовой (~1530

нм) областях спектра при их возбуждении лазерным излучением с длиной волны $\lambda = 976$ нм, а также их применению в мультимодальном биоимиджинге.

Представлен обзор литературных данных по оптическим свойствам различных биотканей, а также по описанию проблем их визуализации и методам решения последних. Показано, что для реализации биоимиджинга важно разработать универсальные наномаркеры, которые позволяют проводить визуализацию при помощи нескольких различных методик одновременно, имея несколько пиков фотолюминесценции в разных диапазонах спектра.

Далее представлены эксперименты по подготовке и визуализации образцов, покрытых наночастицами, легированными ионами Er и Ce, через модельные среды, имитирующие оптические свойства биотканей – коровье молоко жирностью 3,5% и дистиллированную воду. Эти наночастицы не только имеют интенсивные пики фотолюминесценции в видимом диапазоне спектра, но и обладают высокой интенсивностью фотолюминесценции в ИК диапазоне благодаря легирующим ионам Ce. При взаимодействии с ионами Ce^{3+} происходят резонансные переходы ионов Er^{3+} с уровней выше $^4I_{13/2}$. В результате наночастицы имеют интенсивный пик фотолюминесценции на длине волны 1530 нм (Рисунок 4а).

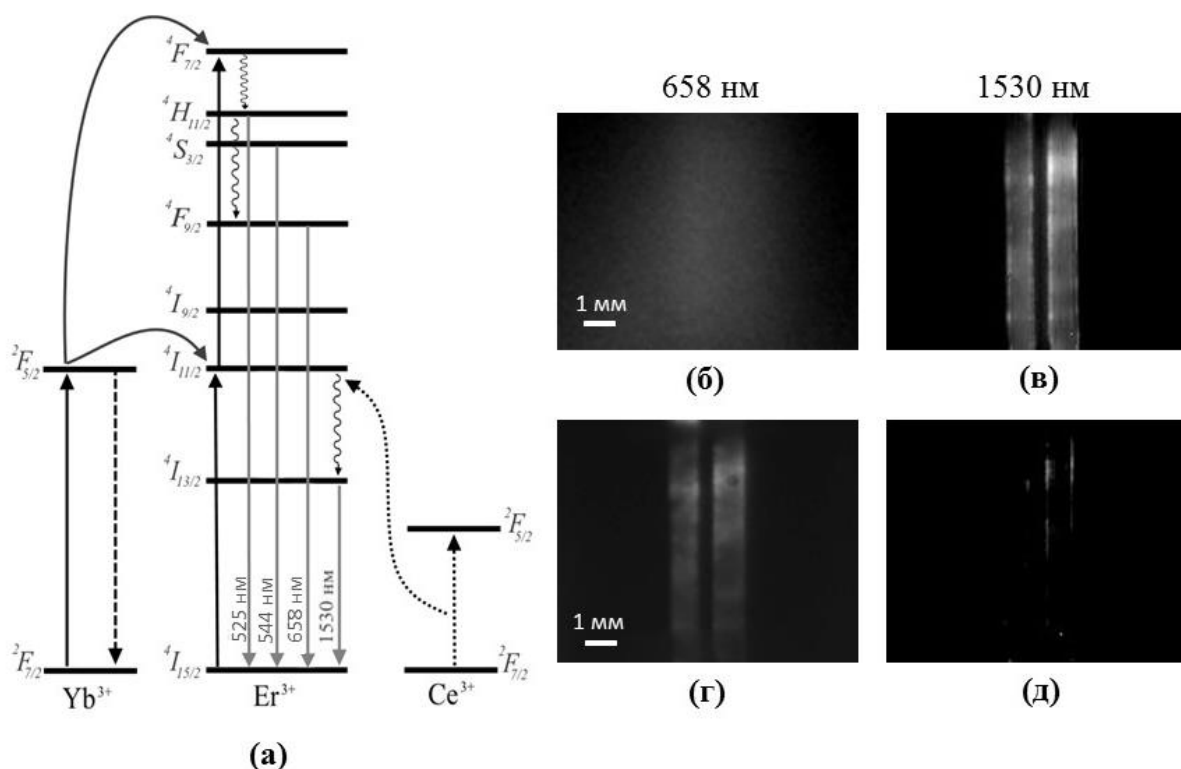


Рисунок 4 – Диаграмма энергетических уровней НАФ, легированных Ce (а); изображения двух бумажных полос, покрытых НАФ, через 1 мм слой молока жирностью 3,5% в видимой (б) и ближней ИК области спектра (в); изображения двух бумажных полос, покрытых НАФ, полученных через слой воды, толщиной 3 мм в видимой (г) и ближней ИК области спектра (д).

Получены четкие и контрастные изображения люминесцирующих наночастиц, легированных Ce, на бумажной поверхности через оптически неоднородные среды с различными свойствами. Показано, что вследствие большого (более 5 мс) времени жизни фотолюминесценции

НАФ на длине волны 1530 нм эти частицы практически идеально подходят для ИК визуализации через сильно рассеивающую среду (молоко) при использовании техники временного стробирования. В этих же условиях при визуализации в видимом диапазоне двух бумажных полосок шириной 1 мм, содержащих эти НАФ и находящихся на расстоянии 0,7 мм друг от друга, невозможно отделить изображение одной полоски бумаги от другой (Рисунок 4б), в отличие от изображения, полученного на длине волны 1530 нм (Рисунок 4в). Это обусловлено законом рассеяния Релея (чем больше длина волны, тем меньше интенсивность рассеяния света) [19].

$$I \sim \omega^4 \sim \frac{1}{\lambda^4}; \quad (3)$$

В то время, как визуализацию этих же объектов через среду с высоким (90 и более масс.%) содержанием воды можно проводить на длине волны ≤ 1200 нм [20], при визуализации образцов через слой воды толщиной ≥ 4 мм изображение в ИК диапазоне практически полностью пропадает (Рисунок 4д). Это связано с высоким ($\sim 10^3$ см⁻¹) коэффициентом поглощения водой излучения на длине волны 1530 нм, тогда как на длине волны 652 он составляет всего $\sim 10^{-2}$ см⁻¹ [21]. В экспериментах в видимом диапазоне (в первом окне прозрачности биоткани) приемлемое качество изображения образцов сохранялось вплоть до слоя воды толщиной 11 мм. На всех изображениях отчетливо виден зазор между бумажными полосками (Рисунок 4г).

Глава 5 посвящена описанию процессов формирования биосовместимых матричных структур, импрегнированных НАФ β -NaYF₄:Yb³⁺,Er³⁺/NaYF₄, с целью исследования возможностей их использования в биоимиджинге.

Представлен обзор используемых сегодня методов изготовления биосовместимых матричных структур с требуемыми физико-химическими свойствами и геометрическими характеристиками. Особое внимание в нем уделено методам электроспиннинга (ЭС) и трехмерной (3D) печати. Эти два принципиально разных метода имеют свои преимущества и недостатки и могут быть использованы для решения различных задач тканевой инженерии. Эластичные структуры с большой площадью поверхности могут быть использованы в таргетной терапии и локализованной доставке лекарственных препаратов. Тогда как жесткий трехмерный матрикс с четко определенной формой больше подходит для замещения дефектов хрящевой и костной ткани.

На примере полимеров природного и синтетического происхождения рассмотрены основные классы биорезорбируемых материалов для формирования биосовместимых матричных структур. Описаны проведенные в диссертационной работе эксперименты по исследованию процессов деградации полиэфирных структур в различных условиях, а также по поиску оптимального метода гидрофилизации их поверхности с целью улучшения их физико-химических свойств.

Проведены эксперименты по разработке и формированию полимерных матриксов, импрегнированных НАФ, а также изучению их фотолюминесцентных характеристик в условиях *in vitro* и *in vivo*. В качестве основы этих матриксов использовались коллаген I типа (КОЛ),

полилактидогликолид (ПЛГ) и глицидил метакрилат гиалуроновой кислоты (ГМГК) [22]. Для каждого из перечисленных выше полимеров выбран наиболее эффективный и удобный способ формирования из них трехмерных структур заданной архитектуры.

Высокопористые полимерные матрицы на основе коллагена и полилактидогликолида формировались методом электроспиннинга. С помощью химического сшивания коллагеновых матриц достигнуто существенное повышение их прочности на растяжение и структурной стабильности. При этом сравнивались два метода химического сшивания. В первом, методе сшивающий агент – диглицидивый эфир 1,4-бутанодиола (ДГЭБ) – добавляли непосредственно в исходную композицию для электроспиннинга. Однако, исследованные образцы не сохраняли свою структуру уже после первых суток пребывания в фосфатно-соляном буферном растворе (PBS). Во втором методе сшивающий агент ДГЭБ в концентрации 15 масс.% добавляли к изопропанолу, в котором хранился образец для стабилизации. В обоих методах образцы хранили при температуре 37°C в шейкере-инкубаторе в течение 6 дней. Показано, что образцы, стабилизированные вторым методом, сохранили свою волокнистую структуру после 1 суток пребывания в PBS. Сочетание этих двух методов оказалось наиболее эффективным. После добавления 0,5 масс.% ДГЭБ в исходную композицию и выдержки в растворе изопропанола с 15 масс.% ДГЭБ в течение 6 суток все образцы сохраняли свою структуру даже после выдержки в PBS в течение 1 суток. Проведены механические испытания ЭС КОЛ матриц с 0,5, 1 и 3 масс.% ДГЭБ в исходной композиции. Образцы с содержанием ДГЭБ 0,5 и 1 масс.% обладают схожими (в пределах погрешности измерений) механическими характеристиками. Одну партию образцов погружали в PBS на 1 сутки сразу после сшивания. Вторую – сначала полностью высушивали при нормальных условиях в течение суток для полного удаления изопропанола. Наибольшей прочностью на разрыв обладают образцы с самым высоким содержанием ДГЭБ – 3 масс.%. Однако при этом они обладают наименьшей величиной максимального удлинения. Важно отметить, что предел прочности предварительно высушенных образцов (Рисунок 5) был на порядок выше по сравнению с невысушенными, а их максимальное удлинение в несколько раз меньше. Этот простой шаг может существенно изменить механические свойства матриц и стать инструментом для создания структур с желаемыми физико-механическими характеристиками.

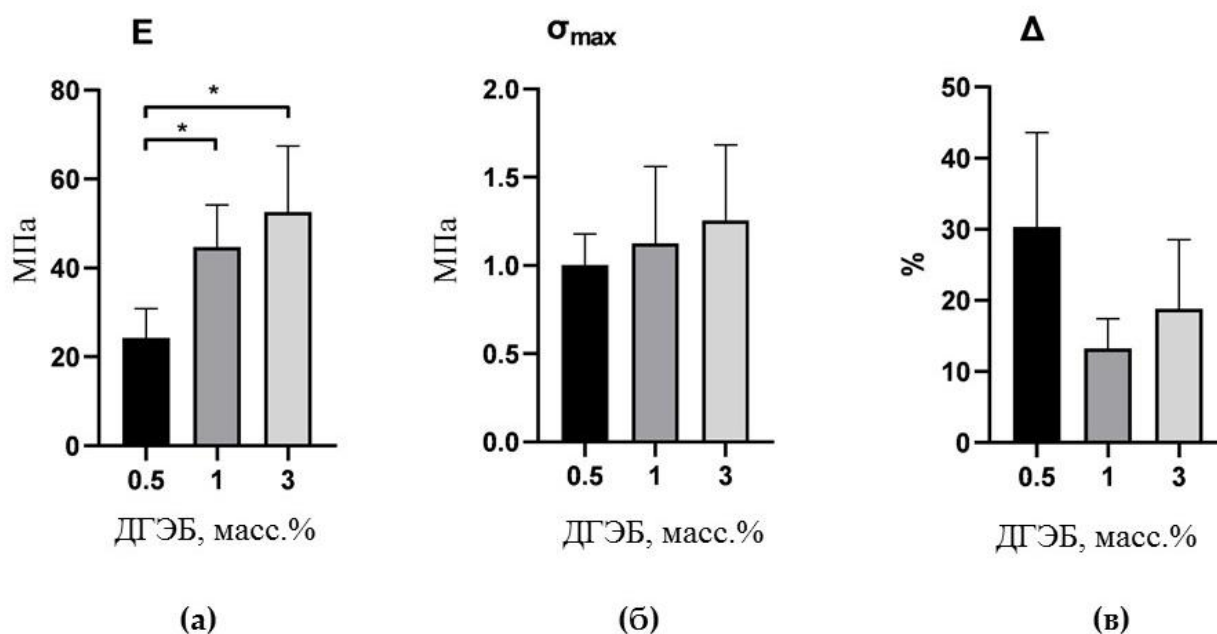


Рисунок 5 - Результаты механических испытаний ЭС КОЛ образцов, выдержанных 6 дней в изопропанолe с 15% ДГЭБ, высушенных и погруженных в PBS на 1 сутки: (а) модуль Юнга, (б) предел прочности при растяжении, (в) максимальное удлинение. (* $p < 0,05$).

Варьируя концентрацию сшивающего агента, можно контролировать не только механические свойства полученных матриц, но и скорость их биodeградации *in vitro* и *in vivo*. Для дальнейших экспериментов выбраны предварительно высушенные образцы ЭС КОЛ с 1 масс.% ДГЭБ.

Проведены механические испытания ПЛГ матриц, изготовленных методом электроспиннинга. Показано, что образцы ЭС ПЛГ, выдержанные в PBS одни сутки, сжимаются примерно на 20% и становятся более плотными по сравнению с исходными. Удлинение при разрыве у обоих типов образцов примерно одинаковое, однако при испытании видно, что удлинение до предела прочности (без частичных разрывов из-за расслоения) у исходных образцов намного ниже – 5% против 128% у выдержанных.

Трехмерные матрицы на основе полилактогликолида изготавливались предложенным и разработанным ранее сотрудниками ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН методом антисольвентной трехмерной печати [23]. Матрицы на основе ГМГК формировались с помощью экструзионной трехмерной печати с последующим фотоотверждением. Все исследованные матрицы, импрегнированные наночастицами β - $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$ III типа, визуализированы с высоким оптическим контрастом с помощью лазерного излучения с длиной волны 976 нм и высокочувствительной регистрирующей камеры. Обнаружено, что спектры фотолуминесценции наночастиц, инкапсулированных в матрицах, отличаются от спектров интактных наночастиц (Рисунок 6). Это изменение спектров позволяет использовать НАФ как для мониторинга микроокружения самого матрикса, так и для изучения процессов биodeградации образующего его полимера и высвобождения из него наночастиц.

На рисунках 7 (а) и (б) приведены изображения сканирующей электронной микроскопии поверхности исследованных матриц. Видно, что НАФ в основном находятся внутри матриц – на сколах, срезах или в порах. На поверхности их практически нет. Следовательно, наночастицы, внедренные в матрикс, по большей части, изолированы от внешней среды. Это также подтверждается и результатами анализа выхода НАФ из матрикса в водную среду, описанными ниже.

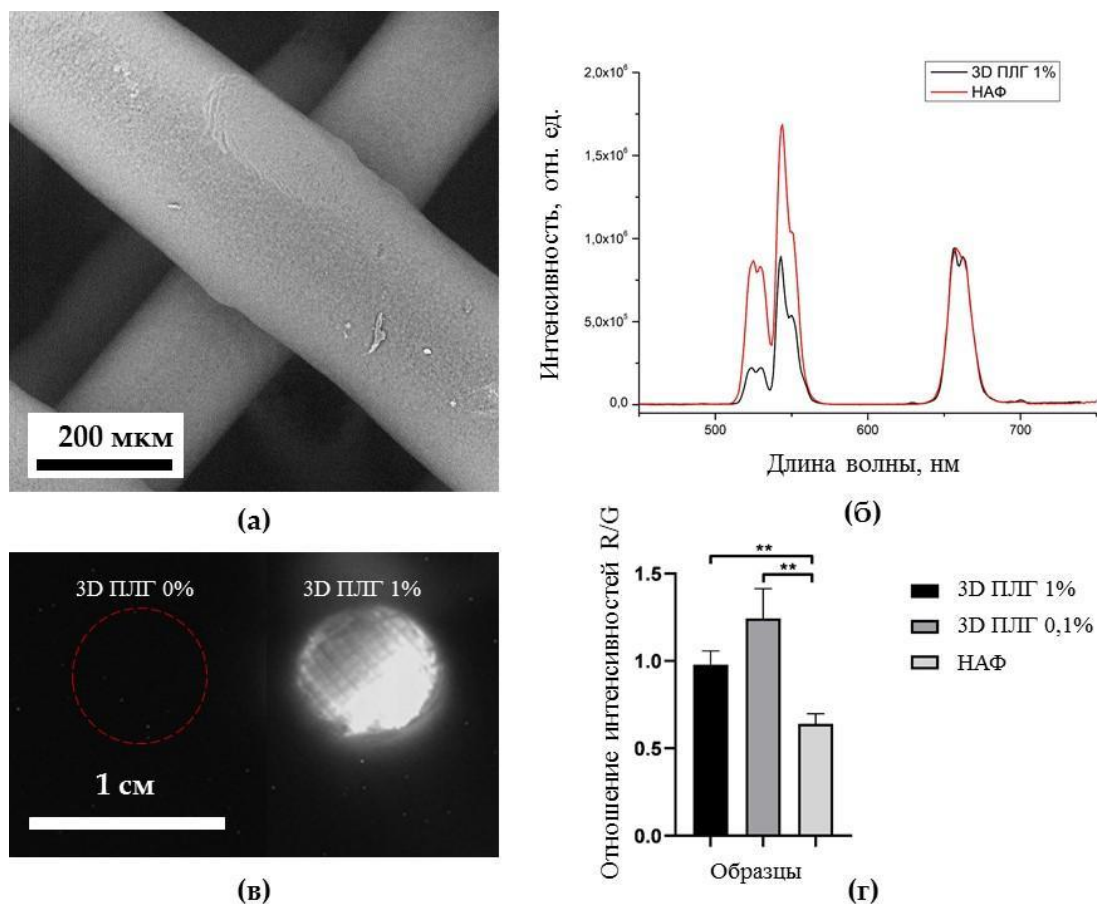


Рисунок 6 - Характеризация 3D PLLG матриц: СЭМ изображение (а), нормированные спектры фотолюминесценции intactных НАФ и НАФ, включенных в матрицы 3D PLLG (б), фотографии матриц 3D PLLG с 0 (контроль) и 1 мг НАФ на 100 мг полимера при облучении возбуждающим излучением 976 нм (в) и отношение интенсивности «красного» пика на длине волны 658 нм к интенсивности «зеленого» пика на длине волны 544 нм НАФ и матриц 3D PLLG (0,1 и 1% НАФ) (г). (** $p < 0,01$).

Изучен процесс биодegradации матриц, импрегнированных НАФ, *in vitro*. Продемонстрировано, что спектр фотолюминесценции высвобожденных НАФ имеет более высокое соотношение R/G по сравнению со спектром НАФ внутри матрикса и аналогичен соотношению для НАФ в фосфатно-соляном буферном растворе (Рисунок 7в). Увеличение отношения обусловлено специфическим взаимодействием НАФ с молекулами воды [24].

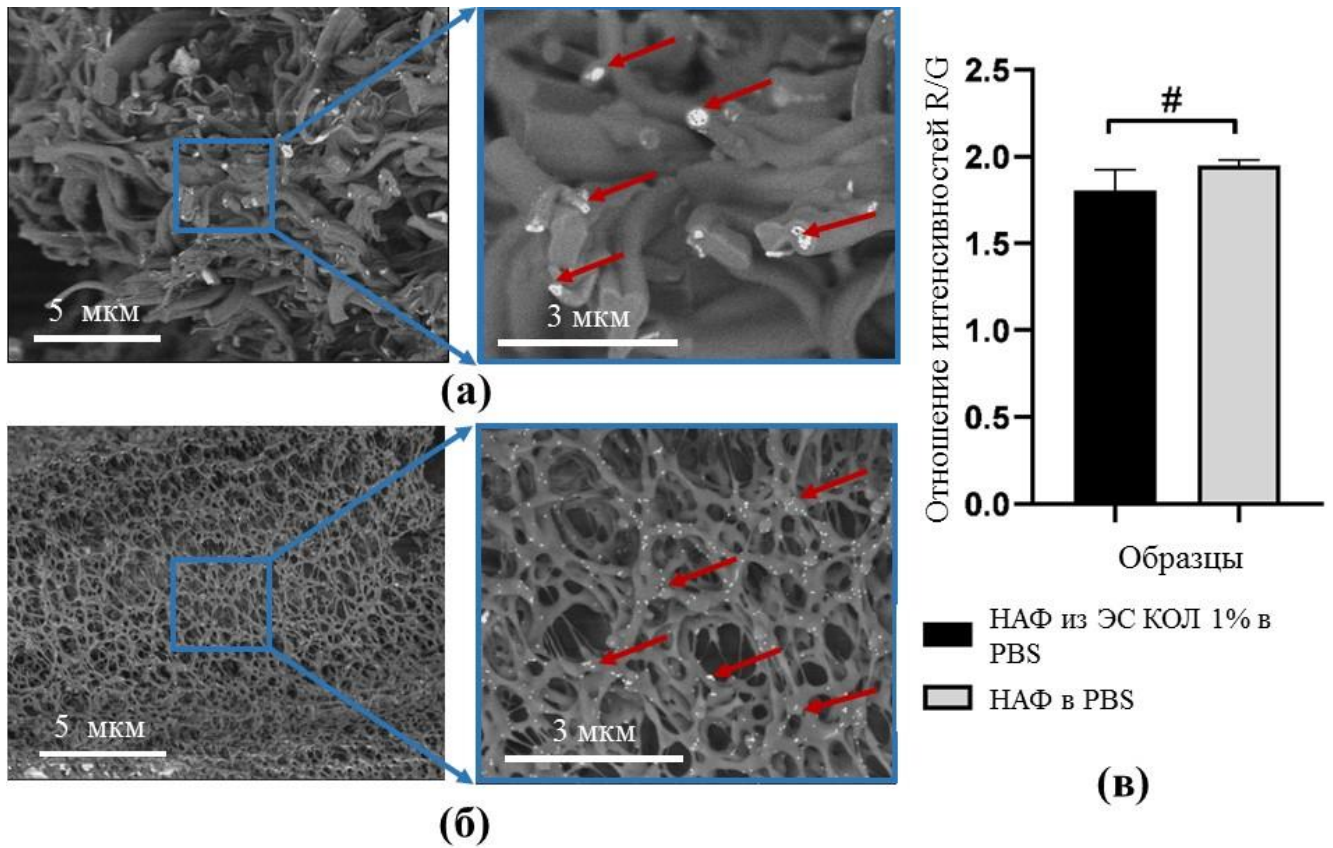


Рисунок 7 – СЭМ изображения поперечных срезов матриц при различном увеличении ЭС КОЛ 1% (а) и 3D PLLG 1% (б) (красными стрелочками показано положение НАФ), а также отношение интенсивности «красного» пика фотолюминесценции на длине волны 658 нм к интенсивности «зеленого» пика на 544 нм свободных НАФ в фосфатно-солевом буфере и НАФ, высвобожденных из матриц ЭС КОЛ 1% в PBS (в). (* $p > 0.05$).

С помощью МТТ-теста, световой и конфокальной флуоресцентной микроскопии исследована биосовместимость разработанных полимерных матриц, импрегнированных НАФ (Рисунок 8). Показано, что все исследованные образцы не проявляют выраженной острой цитотоксичности и обеспечивают требуемые условия для эффективного прикрепления, пролиферации и дифференцировки клеток, необходимые для регенерации биотканей.

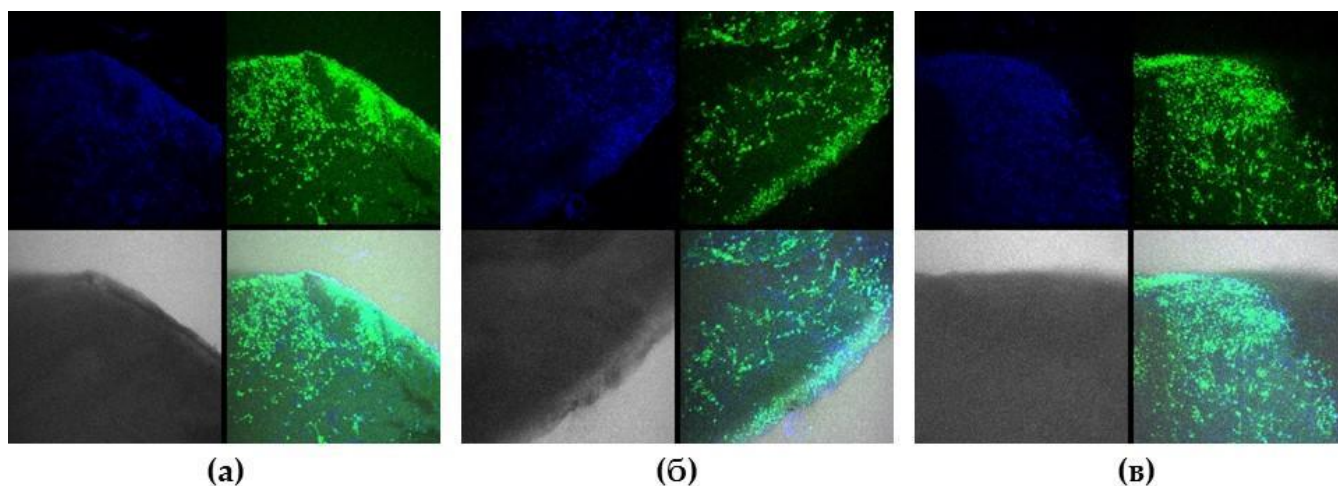


Рисунок 8 - Конфокальные изображения матрицв ЭС КОЛ (а), ЭС КОЛ 0,1% (б) и ЭС КОЛ 1% (в), культивированных с фибробластами Vj-5ta в течении 8 дней. Зеленый – окрашены живые клетки с помощью Calcein AM, синий – окрашены клеточные ядра с помощью Hoechst 33342.

Оценку тканевой реакции на исследуемые полимерные матрицы *in vivo* проводили с использованием модели их подкожной имплантации самкам мышей линии BALB/c. В ходе проведения исследований на протяжении всех 14 суток эксперимента наблюдалось монотонное снижение интегральной интенсивности фотолюминесценции всех исследованных образцов (Рисунок 9). Это, в частности, свидетельствует о постепенной деградации этих матрицв в тканях лабораторных животных. Наиболее заметным это снижение было с 1 до 7 дня эксперимента. На четвертый день эксперимента наблюдается увеличение области регистрации фотолюминесценции, что может свидетельствовать о том, что процесс биodeградации матрицв начал сопровождаться высвобождением из них НАФ в окружающие ткани.

При исследовании гистологических срезов фрагментов тканей с имплантированными матриксами обнаружено, что матрицы ЭС КОЛ и 3D ПЛГ практически сохранили свою структуру (Рисунок 10а, б), что подтверждается 50% снижением интенсивности фотолюминесценции на 14-й день эксперимента. В то время как при анализе образцов с матриксами ЭС ПЛГ и 3D ГМГК были обнаружены только фрагменты. Коллагеновые матрицы вызвали умеренную воспалительную реакцию, характеризующуюся наличием большого количества сегментоядерных лейкоцитов в окружающих тканях. Анализ гистологических срезов фрагментов тканей с матриксами на основе ПЛГ и ГМГК продемонстрировал отсутствие воспалительной реакции в окружающих имплантированные образцы тканей (Рисунок 10в). В тоже время отмечено монотонное снижение интегральной интенсивности фотолюминесценции самих матрицв со временем, отражающее процессы их биodeградации и постепенного высвобождения из них инкапсулированных наночастиц.

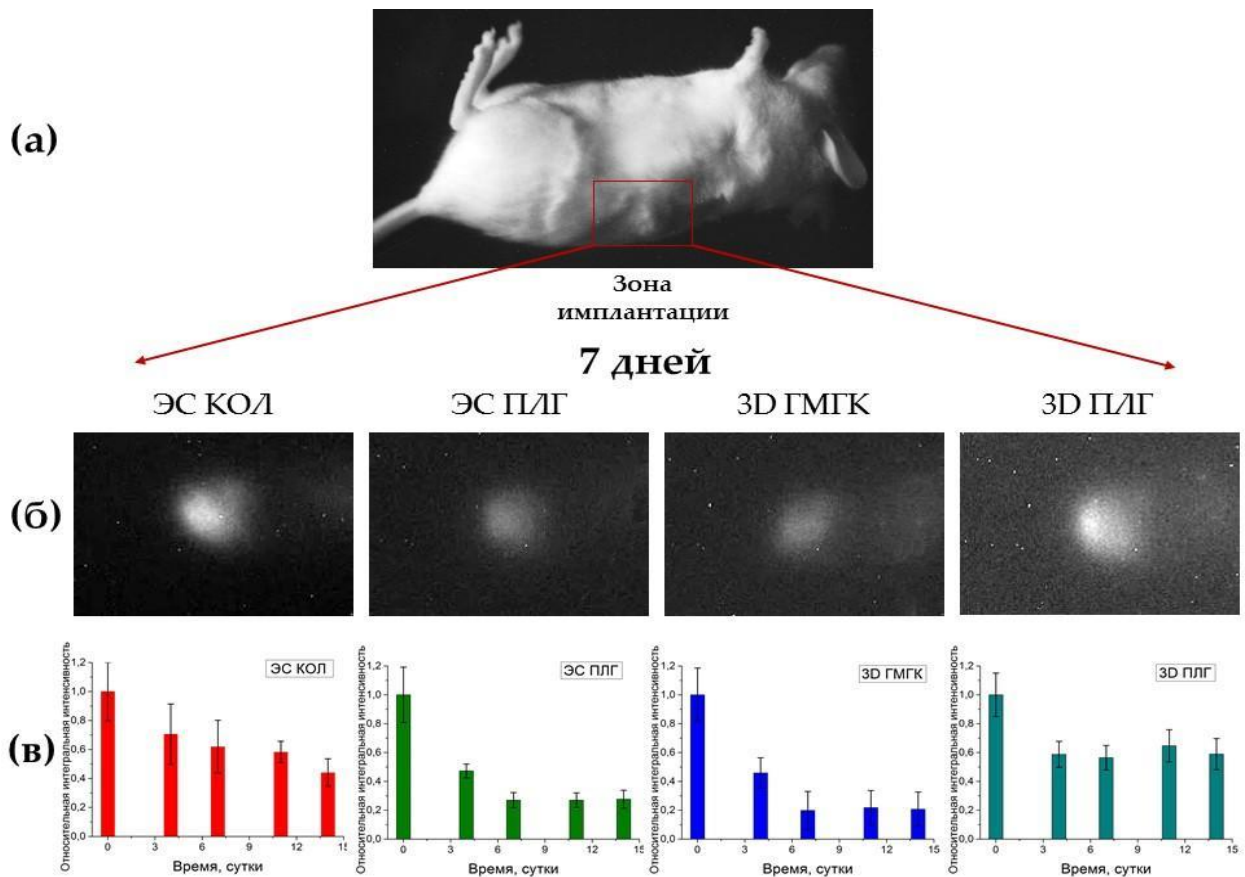


Рисунок 9 - Визуализация матриц. Светлопольная фотография животного с зоной имплантации матриц (а), фотолюминесцентные изображения матриц, имплантированных под кожей, при лазерном возбуждении 976 нм (7-й день после имплантации матриц) (б) и гистограммы, свидетельствующие о снижении фотолюминесцентного сигнала в ходе эксперимента *in vivo* (в).

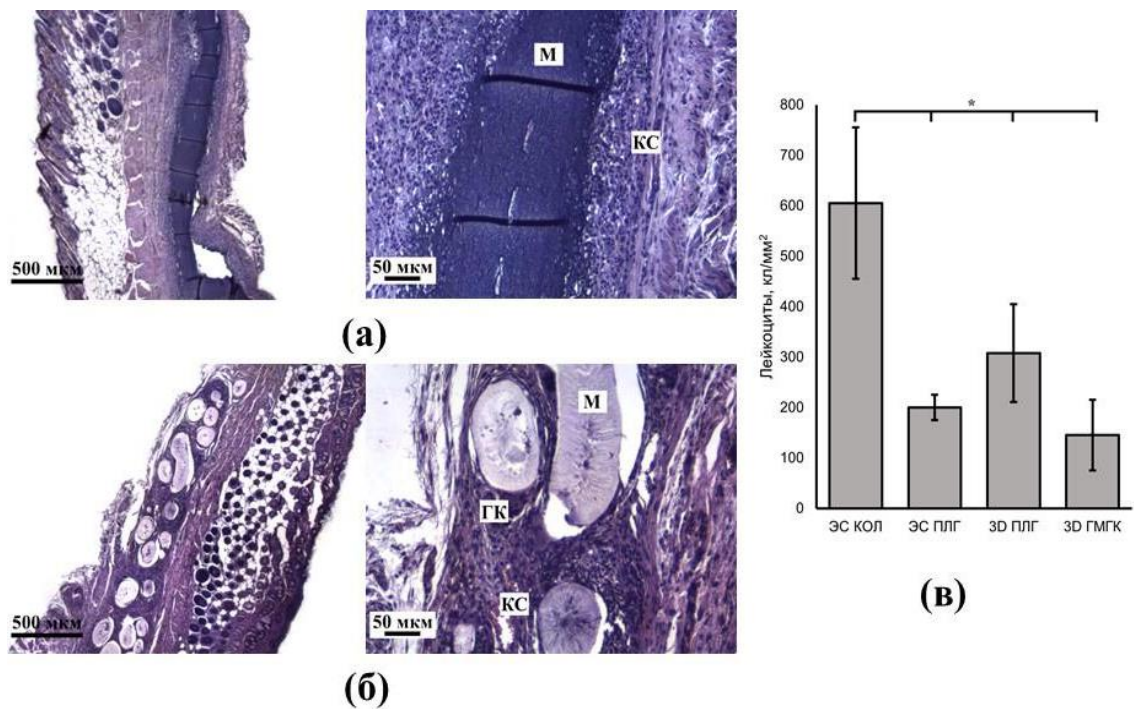


Рисунок 10 - Гистологический срез фрагментов тканей с ЭС КОЛ (а) и 3D ПЛГ матрицами (б), а также количество лейкоцитов на 1 мм² (в), (* p < 0,05).

Заключение

Одной из критически важных задач современного биоимиджинга является поиск и разработка нетоксичных наночастиц, обладающих достаточно высокими коэффициентами конверсии возбуждающего их излучения в фотолюминесценцию в требуемые спектральные диапазоны, а также временами жизни этой фотолюминесценции. Это необходимо для успешного развития передовых подходов и методологии неинвазивной прижизненной визуализации биологических объектов внутри организма человека и животных. Такие наночастицы, с одной стороны, могут легко проникать в живые клетки и ткани, а с другой – обеспечивать высококонтрастное изображение содержащих их структур различными методами фотолюминесцентной визуализации.

В настоящей работе изучены оптические характеристики фантомов, имитирующих свойства биологических тканей, с использованием как рассеивающей, так и поглощающей модельных сред. Исследован процесс преобразования спектра фотолюминесценции апконвертирующих наночастиц при прохождении их излучения через эти фантомы.

Разработанные и исследованные биосовместимые структуры на основе полимеров природного и синтетического происхождения, по сути, представляют собой компоненты элементной базы для создания так называемых “умных матриц” (smart scaffolds), обеспечивающие требуемые фотолюминесцентные, биохимические и механические свойства для прижизненной визуализации и мониторинга взаимодействия имплантированных ТИК с живыми тканями в реальном масштабе времени. Экспериментально показано наличие лишь умеренной воспалительной реакции тканей, окружающих фотолюминесцентные матрицы, импрегнированные НАФ, при их имплантации, а также монотонное снижение интегральной интенсивности фотолюминесценции самих матриц со временем, отражающее процессы их биодegradации и постепенного высвобождения из них инкапсулированных наночастиц.

Показано, что исследованные апконвертирующие нанофосфоры, обладающие уникальными оптическими свойствами, могут быть использованы в качестве мультимодальных фотолюминесцентных наномаркеров в видимом и ближнем ИК диапазонах спектра. Наночастицы, имеющие интенсивные линии фотолюминесценции в разных областях спектра, дают возможность использования различных методов оптической диагностики, оптимизируя их для решения конкретных исследовательских задач.

Полученные данные и экспериментальные результаты могут быть использованы в дальнейшем как для разработки новых подходов к визуализации и диагностике разнообразных тканеинженерных конструкций, так и для мониторинга происходящих с ними процессов *in vivo* в реальном масштабе времени.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Дунаев А.Г. Физико-химические методы повышения гидрофильности поверхности алифатических полиэфиров для тканеинженерных конструкций / Дунаев А.Г., Марьянац А.О., Сячина М.А., Трифанова Е.М., Попов В.К. // Физика и химия обработки материалов – 2019. – № 6 – С.72–78.
2. Арутюнян И.В. Деградация D,L-полилактидов в биологических средах: эксперимент и модель / Арутюнян И.В., Боровиков П.И., Дунаев А.Г., Кротова Л.И., Свиридов А.П., Трифанова Е.М., Фатхудинов Т.Х., Сухих Г.Т., Попов В.К. // Перспективные материалы – 2020. – № 7 – С.40–51.
3. Трифанова Е.М. Синтез и характеристика наноразмерных апконвертирующих фосфоров $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$ / Трифанова Е.М., Николаева М.Е., Попов В.К. // Перспективные материалы – 2021. – № 12 – С.40–50.
4. Trifanova E.M. Natural and synthetic polymer scaffolds comprising upconversion nanoparticles as a bioimaging platform for tissue engineering / Trifanova E.M., Khvorostina M.A., Mariyanats A.O., Sochilina A. V, Nikolaeva M.E., Khaydukov E. V, Akasov R.A., Popov V.K. // Molecules – 2022. – Т. 27 – № 19 – С.6547.
5. Trifanova E.M. Photoluminescent $\alpha\text{-NaYbF}_4:\text{Er}_{0.02}\text{Ce}_{0.02}\text{Zn}_{0.1}$ nanoparticles for bioimaging in visible and infrared ranges / Trifanova E.M., Koshelev A. V., Khaydukov K. V., Krylov I. V., Popov V.K. // St. Petersburg Polytechnic University Journal: Physics and Mathematics – 2022. – Т. 15 – № 3.2 – С.306–310.
6. Trifanova E.M. Photoluminescent scaffolds based on natural and synthetic biodegradable polymers for bioimaging and tissue engineering / Trifanova E.M., Babayeva G., Khvorostina M.A., Atanova A. V, Nikolaeva M.E., Sochilina A. V, Khaydukov E. V, Popov V.K. // Life – 2023. – Т. 13 – № 4 – С.870.
7. Арутюнян И.В. Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на физико-химические и механические свойства полиэфирных матриц различной архитектуры / Арутюнян И.В., Дунаев А.Г., Трифанова Е.М., Хворостина М.А., Ельчанинов А.В., Соболева А.Г., Фатхудинов Т.Х., Попов В.К. // Перспективные материалы – 2023. – № 5 – С.22–34.
8. Трифанова Е.М. Трансформации спектров фотолюминесценции наноразмерных апконвертирующих фосфоров фантомами биологических тканей / Трифанова Е.М., Николаева М.Е., Свиридов А.П., Попов В.К. // Оптика и спектроскопия – 2023. – Т. 131 – № 6 – С.787–796.

Публикации в материалах конференций:

1. Дунаев А.Г., Антонов Е.Н., Лялина Е.М., Мариянац А.О., Попов В.К., Сячина М.А. Улучшение смачиваемости гидрофобных поверхностей матрицков из D,L-полилактида для тканевой инженерии Саратов, Россия, 2018. – 239–242с.
2. Мариянац А.О., Антонов Е.Н., Дунаев А.Г., Лялина Е.М., Минаева С.А., Попов В.К. Гидрофилизация поверхности полилактогликолида водными растворами гиалуроновой кислоты и альгината натрия Москва, Россия, 2018. – 79–80с.
3. Мамедова В.Н., Лялина Е.М., Крылов И.В., Хайдуков К.В., Сочилина А.В., Нечаев А.В., Генералова А.Н., Савельев А.Г., Хайдуков Е.В. Создание люминисцентного скаффолда из коллагена методом электроспиннинга Москва, Россия, 2018. – с. 52-56с.
4. Трифанова Е.М., Голубева Е.Н., Кузин С.В., Попов В.К. СКФ инкапсуляция спиновых зондов для исследования процессов гидролиза алифатических полиэфиров Ростов-на-Дону, Россия, 2019. – 405–407с.
5. Трифанова Е.М., Акасов Р.А., Генералова А.Н., Мариянац А.О., Савельев А.Г., Сочилина А.В., Хайдуков Е.В., Попов В.К. Электроспиннинг и структурная стабилизация коллагеновых матрицков для тканеинженерных конструкций Москва, Россия, 2019. – 235с.
6. Дунаев А.Г., Мариянац А.О., Сячина М.А., Трифанова Е.М., Попов В.К. Методы повышения гидрофильности поверхности D,L-полилактида и полилактогликолида для тканеинженерных конструкций Москва, Россия, 2020. – 5с.
7. Трифанова Е.М., Бухарова Т.Б., Савельев А.Г., Сочилина А.В., Сячина М.А., Хайдуков Е.В., Попов В.К. Электроспиннинг коллагеновых матрицков и их стабилизация с помощью химических сшивающих агентов Москва, Россия, 2020. – 11с.
8. Трифанова Е.М., Мариянац А.О., Попов В.К. Электроспиннинг коллагеновых матрицков: структурная стабилизация и механические свойства Москва, Россия, 2020. – 88–89с.
9. Трифанова Е.М., Акасов Р.А., Мариянац А.О., Савельев А.Г., Сочилина А.В., Шолина Н.В., Хайдуков Е.В., Попов В.К. Смарт-скаффолды с апконвертирующими нанофосфорами для тканевой инженерии Москва, Россия, 2020. – 223–224с.
10. Trifanova E.M., Koshelev A.V., Popov V.K. Analysis of photoluminescent properties of upconversion nanophosphors $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}/\text{NaYF}_4$ Moscow, Russia: Publishing house of Sechenov University, 2021. – 15с.
11. Trifanova E.M., Khaydukov K. V., Koshelev A. V., Krylov I. V., Popov V.K. Photoluminescent nanoparticles $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}\text{Er}^{3+}\text{Ce}^{3+}$ for multipurpose bioimaging Saint-Petersburg, 2022. – 116–117с.
12. Трифанова Е.М., Акасов Р.А., Кошелев А.В., Попов В.К. Биосовместимость и оптические свойства фотоактивных полиэфирных матрицков для тканеинженерных конструкций, 2022. – 172с.

13. Trifanova E.M., Khvorostina M.A., Akasov R.A., Babayeva G., Mariyanats A.O., Nikolaeva M.E., Sochilina A. V., Popov V.K. Upconversion nanoparticles as multimodal nanomarkers for non-invasive bioimaging, monitoring and tissue engineering Rome, 2023. – 23c.

Список цитируемой литературы:

1. Sochilina A. V. Nanohybrid scaffolds with luminescent remote control / Sochilina A. V., Savelyev A.G., Sholina N. V., Karimov D.N., Nechaev A. V., Khaydukov E. V., Generalova A.N. // EPJ Web of Conferences – 2018. – Т. 190 – C.04022.
2. Zhou J. Upconversion nanophosphors for small-animal imaging / Zhou J., Liu Z., Li F. // Chem. Soc. Rev. – 2012. – Т. 41 – № 3 – C.1323–1349.
3. Park Y. II Nonblinking and nonbleaching upconverting nanoparticles as an optical imaging nanoprobe and T1 magnetic resonance imaging contrast agent / Park Y. II, Kim J.H., Lee K.T., Jeon K.S., Na H. Bin, Yu J.H., Kim H.M., Lee N., Choi S.H., Baik S. II, Kim H., Park S.P., Park B.J., Kim Y.W., Lee S.H., Yoon S.Y., Song I.C., Moon W.K., Suh Y.D., Hyeon T. // Advanced Materials – 2009. – Т. 21 – № 44 – C.4467–4471.
4. Park Y. II Upconverting nanoparticles: a versatile platform for wide-field two-photon microscopy and multi-modal in vivo imaging / Park Y. II, Lee K.T., Suh Y.D., Hyeon T. // Chemical Society Reviews – 2015. – Т. 44 – № 6 – C.1302–1317.
5. Hemmer E. Upconverting and NIR emitting rare earth based nanostructures for NIR-bioimaging / Hemmer E., Venkatachalam N., Hyodo H., Hattori A., Ebina Y., Kishimoto H., Soga K. // Nanoscale – 2013. – Т. 5 – № 23 – C.11339.
6. Zhong Y. A mini-review on rare-earth down-conversion nanoparticles for NIR-II imaging of biological systems / Zhong Y., Dai H. // Nano Research – 2020. – Т. 13 – № 5 – C.1281–1294.
7. Nam S.Y. Imaging strategies for tissue engineering applications / Nam S.Y., Ricles L.M., Suggs L.J., Emelianov S.Y. // Tissue Engineering - Part B: Reviews – 2015. – Т. 21 – № 1 – C.88–102.
8. Shi X. Optical visualization and imaging of nanomaterials / Shi X., Zhao S., Wang F., Jiang Q., Zhan C., Li R., Zhang R. // Nanoscale Advances – 2021. – Т. 3 – № 4 – C.889–903.
9. Wang Y.W. Multiplexed optical imaging of tumor-directed nanoparticles: a review of imaging systems and approaches / Wang Y.W., Reder N.P., Kang S., Glaser A.K., Liu J.T.C. // Nanotheranostics – 2017. – Т. 1 – № 4 – C.369–388.
10. Moroni L. Integrating novel technologies to fabricate smart scaffolds / Moroni L., Wijn J.R. de, Blitterswijk C.A. van // Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition – 2008. – Т. 19 – № 5 – C.543–572.
11. Ahadian S. Smart scaffolds in tissue regeneration / Ahadian S., Khademhosseini A. // Regenerative Biomaterials – 2018. – Т. 5 – № 3 – C.125–128.
12. Sochilina A.V. Controlled modification of hyaluronic acid for photoinduced reactions in tissue engineering. / Sochilina A.V., Savelyev A.G., Demina P.A., Ierusalimsky N.V., Khochenkov D.A., Akasov R.A., Sholina N.V., Khaydukov E.V., Generalova A.N. // Journal of Physics: Conference Series – 2018. – Т. 1124 – № 3 – C.031014.
13. Karimov D.N. Upconversion nanoparticles: synthesis, photoluminescence properties, and

applications / Karimov D.N., Demina P.A., Koshelev A. V., Rocheva V. V., Sokovikov A. V., Generalova A.N., Zubov V.P., Khaydukov E. V., Koval'chuk M. V., Panchenko V.Y. // *Nanotechnologies in Russia* – 2020. – Т. 15 – № 11–12 – С.655–678.

14. Würth C. Excitation power dependent population pathways and absolute quantum yields of upconversion nanoparticles in different solvents / Würth C., Kaiser M., Wilhelm S., Grauel B., Hirsch T., Resch-Genger U. // *Nanoscale* – 2017. – Т. 9 – № 12 – С.4283–4294.

15. Zhao J. Upconversion luminescence with tunable lifetime in NaYF₄:Yb,Er nanocrystals: role of nanocrystal size / Zhao J., Lu Z., Yin Y., McRae C., Piper J.A., Dawes J.M., Jin D., Goldys E.M. // *Nanoscale* – 2013. – Т. 5 – № 3 – С.944–952.

16. Nadort A. Lanthanide upconversion luminescence at the nanoscale: fundamentals and optical properties / Nadort A., Zhao J., Goldys E.M. // *Nanoscale* – 2016. – Т. 8 – № 27 – С.13099–13130.

17. Свиридов А.П. Оптические поля в пористых матрицах из полилактида / Свиридов А.П., Жигарьков В.С., Шубный А.Г., Юсупов В.И. // *Квантовая электроника* – 2020. – Т. 50 – № 1 – С.81–86.

18. Koshelev A. V Enhancement of luminescent efficiency of α -NaREF₄:Er³⁺ (RE= Y, Yb, Lu) nanocrystals through multi-doping strategy Saint-Petersburg: HSE University - St. Petersburg, 2022. – 303–304с.

19. Seinfeld J.H. Interaction of aerosols with radiation New Jersey: John Wiley and Sons Inc, 2006. Вып. 2nd – 696–698с.

20. The optical properties of biological tissue in the near infrared wavelength range / под ред. A. Roggan, G. Muller. Bellingham, Washington: SPIE Press, 1995. – 10–44с.

21. Beć K.B. Breakthrough potential in near-infrared spectroscopy: spectra simulation. a review of recent developments / Beć K.B., Huck C.W. // *Frontiers in Chemistry* – 2019. – Т. 7 – № FEB – С.1–22.

22. Sochilina A. V. Preparing modified hyaluronic acid with tunable content of vinyl groups for use in fabrication of scaffolds by photoinduced crosslinking / Sochilina A. V., Savelyev A.G., Akasov R.A., Zubov V.P., Khaydukov E. V., Generalova A.N. // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* – 2021. – Т. 47 – № 4 – С.828–836.

23. Mironov A.V. 3D printing of polylactic-co-glycolic acid fiber scaffolds using an antisolvent phase separation process / Mironov A.V., Mironova O.A., Syachina M.A., Popov V.K. // *Polymer* – 2019. – Т. 182 – № July – С.121845.

24. Arppe R. Quenching of the upconversion luminescence of NaYF₄:Yb³⁺,Er³⁺ and NaYF₄:Yb³⁺,Tm³⁺ nanophosphors by water: the role of the sensitizer Yb³⁺ in non-radiative relaxation / Arppe R., Hyppänen I., Perälä N., Peltomaa R., Kaiser M., Würth C., Christ S., Resch-Genger U., Schäferling M., Soukka T. // *Nanoscale* – 2015. – Т. 7 – № 27 – С.11746–11757.