

2. Бахшиев А.В., Романов С.П. Математическое моделирование процессов преобразования импульсных потоков в биологическом нейроне // Нейрокомпьютеры: разработка, применение. – 2009. – №3. – С. 71 – 80.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК *IN VITRO* И *IN VIVO*

**Петрова Е.А.¹, Терпинская Т.И.¹, Каратай Н.В.², Жавнерко Г.К.²,
Улащик В.С.¹**

¹ *Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь,
helena_iseu@mail.ru, biblio@fizio.bas-net.by*

² *Институт химии новых материалов НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь,
zhavn@icnm.bas-net.by*

Квантовые точки (КТ) представляют собой флуоресцентные полупроводниковые нанокристаллы и характеризуются значительно более высоким квантовым выходом, более высокой фотостабильностью по сравнению с традиционными флуоресцентными красителями, большим значением сдвига Стокса, а так же возможностью получать наночастицы с заданной длиной волны испускания, варьируя их размер. Более того, модификация поверхности позволяет получать КТ с заданными биологическими свойствами. Конъюгаты КТ с различными лигандами используются в качестве маркера в проточной цитофлуориметрии, флуоресцентной микроскопии, а так же в диффузионной флуоресцентной томографии. Одной из перспектив использования КТ является маркирование опухолей и, в том числе, опухоль-ассоциированных клеток иммунной системы *in vivo* [1]. Ранее было показано, что покрытые цистеином КТ могут быть использованы для маркировки мезенхимальных стромальных клеток [2].

Целью данной работы была оценка возможности использования КТ, функционализированных цистеином, для визуализации клеток иммунной системы мышей-опухоленосителей.

Материалы и методы. Гидрофильные КТ в органической оболочке из цистеина получали в Институте химии новых материалов НАН Беларуси. Ядра КТ (CdSe/ZnS), синтезированные в БГУ согласно [3, 4], имели максимум флуоресценции на длине волны 555 нм.

Клетки перитонеального смыва (ПС), селезенки и костного мозга (КМ) получали от мышей линии Af, носителей карциномы Эрлиха (КЭ).

Фракцию ядросодержащих клеток (ЯСК) очищали от примеси эритроцитов с помощью гипотонического шока в дистиллированной воде. Оценку содержания фагоцитов осуществляли морфологически (при окрашивании по Романовскому-Гимзе). Конечная концентрация КТ составляла 0,1 и 0,3 мг/мл. Через 10, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минут инкубации при 37° С с помощью флуоресцентного микроскопа оценивали фагоцитоз КТ; через 5 часов оценивали жизнеспособность (ЖСП) клеток методом исключения трипанового синего. Для оценки острой токсичности *in vivo* КТ в дозе 5 мг/кг вводили мышам с солидной формой КЭ внутривенно (в/в) (0,1 мг КТ в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия) и интраперитонеально (и/п) (0,1 мг КТ в 0,2 мл изотонического раствора). Клетки ПС и лимфатические узлы (ЛУ) получали через 24 ч после и/п введения.

Различие между группами оценено методом Манна-Уитни. Результаты представлены в виде: медиана (25-75%)

Результаты. КТ поглощались отдельными ЯСК селезенки, КМ и ПС, что, вероятно, обусловлено различным содержанием фагоцитов (5-30%).

Цитотоксичность КТ имеет дозозависимый характер. ЖСП различных популяций клеток в присутствии КТ приведена в таблице 1. В популяции клеток ПС при их инкубации в среде, содержащей 0,1 мг/мл КТ, не зарегистрировано достоверной потери ЖСП. В концентрации 0,3 мг/мл КТ снижали ЖСП иммунных клеток более чем на 50%.

Таблица 1 – Жизнеспособность клеток при инкубации с КТ

Источник клеток	Жизнеспособность, %			
	Контроль (до инкубации)	Инкубация 5 часов		
		Интактные (без КТ)	КТ, 0,1 мг/мл	КТ, 0,3 мг/мл
ПС	89 (82-93,5)	82 (80,5-82)	81,5 (79-83,5)	39,5 (39-41,5) **, ***
КМ	87,5 (87-91)	77 (74,5-78)*	68,5 (67,5-70,5)**	56 (54-57) **, ***
Селезенка	87,5 (85-91)	80 (78,5-82)*	74,5 (74-75,5)**	59 (57,5-60,5) **, ***

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с контролем (до инкубации), ** - $p < 0,05$ при сравнении с интактными клетками, *** - $p < 0,05$ при сравнении с КТ в концентрации 0,1 мг/мл

Поглощение КТ при их концентрации, обеспечивающей отсутствие цитотоксичности, фагоцитами ПС *in vitro* было прослежено в динамике. Уже через 10 минут инкубации КТ аккумуляровались на мембранах клеток, после чего поглощались и перемещались в цитоплазму. Скопления КТ в цитоплазматических везикулах были визуализированы с помощью

флуоресцентного микроскопа. Флуоресценция меченных клеток была достаточно интенсивной и стабильной для длительного (не менее 30 минут) наблюдения и съемки. ЖСП клеток ПС при инкубации с КТ от 10 минут до 5 часов достоверно не изменялась.

Показано, что эффект, оказываемый наночастицами *in vivo*, зависит от способа их введения. Введение КТ в/в привело к мгновенной гибели животного, что, вероятно, было обусловлено агрегацией КТ и эмболизацией сосудов. В то же время КТ, введенные в аналогичной дозе и/п, не оказывали острого токсического действия и активно поглощались фагоцитами. В течение 24 часов перитонеальные иммунные клетки, поглотившие КТ, в значительных количествах мигрировали в регионарные ЛУ и были визуализированы при облучении в ультрафиолетовом диапазоне без дополнительной подготовки препаратов.

Выводы. Наночастицы CdSe/ZnS в оболочке из цистеина активно поглощаются фагоцитами как *in vitro*, так и *in vivo* и могут быть использованы для визуализации клеток. Оптимальная концентрация наночастиц для маркировки фагоцитов *in vitro* составляет 0,1 мг/мл при времени инкубации от 15 минут до 2 часов. *In vivo* при интраперитонеальном введении в дозе 5 мг/кг суспензия наночастиц может применяться в условиях эксперимента для маркировки регионарных лимфатических узлов.

Работа выполнена в рамках гранта для выполнения НИР аспирантами НАН Беларуси «Поглощение клетками, цитотоксичность и применение для маркировки клеток и опухолевой ткани флуоресцентных полупроводниковых наночастиц CdSe/ZnS различной конструкции» и задания «Исследование цитотоксических, мутагенных и канцерогенных свойств наночастиц и закономерностей их поглощения клетками *in vitro* и *in vivo*» (ГПНИ «Конвергенция»)

Литература

1. Peng, C.-W., Li, Y. Application of Quantum Dots-Based Biotechnology in Cancer Diagnosis: Current Status and Future Perspectives // Journal of Nanomaterials. – 2010. – Vol. 2010. P. – 122-132.
2. Петрова Е.А., Киселёва Е.П., Каратай Н.В., Лазнев К.В., Жавнерко Г.К., Гаин Ю.М. Использование квантовых точек с различными типами покрытия для маркировки культур мезенхимальных стволовых клеток // Сборник материалов Международной научно-практической конференции молодых ученых «Научные стремления - 2011» (14-18 ноября 2011 года). Том 1 / Совет молодых ученых Национальной академии наук Беларуси. – Минск: Белорусская наука. – 2011. – С. 485-488.

3. Peng, X., Wickham, J., Alivisatos, A. P. Kinetics of II-VI and III-V Colloidal Semiconductor Nanocrystal Growth: “Focusing” of Size Distributions // J. Am. Chem. Soc. – 1998. – Vol.120. – 5343-5344.
4. Murray, C. B., Norris, D. J., Bawendi, M. G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites // J. Am. Chem. Soc. – 1993. – Vol.115. – P. – 8706-8709.

ОСОБЕННОСТИ ЗОНДИРОВАНИЯ ПОГЛОЩАЮЩИХ И ГИРОТРОПНЫХ СЛОИСТЫХ СРЕД

Петрова Е.С.¹, Краморева Л.И.²

¹*Гомельский государственный технический университет
им. П.О. Сухого, Гомель, Беларусь,*

²*Гомельский медицинский университет, Гомель, Беларусь,
larisakram@tut.by*

В настоящее время поиск способов, позволяющих увеличить глубину фокуса оптических сканирующих устройств, является активной областью исследований. Для получения качественного изображения биологических структур в условиях значительного светорассеяния необходимым условием является увеличение глубины фокуса оптической системы при неизменном поперечном разрешении. С этой точки зрения, рост интереса к непараксиальным и эванесцентным бесселевым пучкам (ЭБП) связан, прежде всего, с наличием субмикронной структуры осевого максимума, поляризационных и пространственных особенностей.

Как известно, формирование эванесцентного поля происходит в условиях полного внутреннего отражения, когда, например, гауссов световой пучок проходит из среды с показателем преломления n_1 во вторую оптическую среду с n_2 , так что $n_1 > n_2$. По сути возникающее при этом эванесцентное поле представляет собой волноводную гауссову моду, амплитуда которой резко убывает вдоль направления распространения, но фаза остается постоянной. Генерация ЭБП происходит подобным образом, когда через границу раздела двух оптических сред распространяется бесселев пучок (БП). ЭБП обладает важным преимуществом по сравнению с эванесцентным гауссовым пучком и БП: его центральный осевой максимум, имеет размеры сравнимые с длиной волны излучения в среде, где происходит генерация ЭБП и сохраняет профиль интенсивности внутри своей фокальной длины. Фокальная длина такого пучка имеет от-