

کاربردهای نانوذرات مبدل بالا در تصویربرداری زیستی، آزمون‌های زیستی و درمان

کیومرث زرگوش^{*}، ریحانه سادات رفیعی

دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

چکیده

نانوذرات مبدل بالا، نانوذراتی با قابلیت جذب بیش از یک فوتون نور فروسرخ نزدیک و نشر آن به صورت یک فوتون نور فرابنفش و مرئی هستند. امروزه از نانوذرات مبدل بالا در آزمون‌های زیستی، تصویربرداری و درمان سرطان استفاده می‌شود. این نانوذرات به دلیل خواص خودفلئورسانس بسیار کم، عمق نفوذ بالا، طول عمر زیاد، انتشار قابل تنظیم، پایداری تصویری بالا و سمیت پایین نسبت به نقاط کوانتومی و رنگ‌های آلی برتری دارند. در این مقاله مروری به معرفی ویژگی‌ها و کاربردهای مختلف زیستی این نانوذرات پرداخته می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تصویربرداری زیستی، درمان سرطان، فلئورسانس، لومینسانس، نانوذرات مبدل بالا

ایمیل نویسنده مسئول: kiomarszargooosh@cc.iut.ac.ir

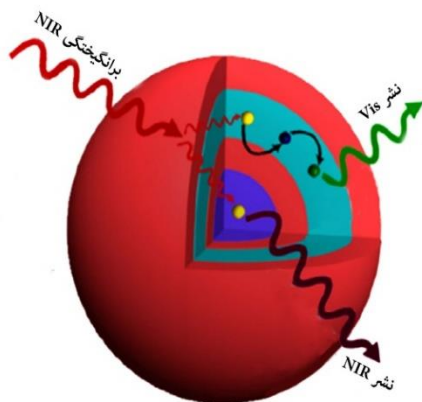
۱- مقدمه:

درشت ملکول‌های زیستی جفت شوند. به علاوه UCN ها مواد زیست سازگارند [۲و۳].

پرتوها در ناحیه NIR با توجه به اینکه دارای انرژی کمتری هستند؛ هنگام ورود به نمونه زیستی موجب خودفلئورسانس^۷ کم-تر، پراکندگی کم‌تر، جذب کم‌تر و همچنین نفوذ عمیق‌تر در نمونه‌های زیستی نسبت به سایر پرتوهای پر انرژی می‌گردند [۵].

پدیده مبدل بالا (UC) زمانی اتفاق می‌افتد که یک ذره بتواند بیش از یک فوتون با طول موج بلند (فروسرخ نزدیک^۲) را جذب کند و آن را به صورت یک فوتون با طول موج کوتاه‌تر (فروسرخ، مرئی^۳ و فرابنفش^۴) نشر کند. کشف پدیده مبدل بالا در سال ۱۹۵۹ توسط بلوآم‌رجن^۵ با پیشنهاد وسیله‌ای مفهومی به نام شمارنده کوانتومی فروسرخ صورت پذیرفت. از اواسط سال ۱۹۶۰ ذرات دارای توانایی ایجاد پدیده مبدل بالا، به صورت گسترده مورد مطالعه قرار گرفتند و کاربرد آن‌ها در دستگاه‌های نوری مورد بررسی قرار گرفت. پیشرفت اساسی در کاربردهای تصویربرداری پزشکی ذرات مبدل بالا با سنتز نانوذرات مبدل بالا (UCN)^۶، که عموماً از عناصر لانتانیدی ساخته می‌شوند صورت گرفت [۱].

نانوذرات مبدل بالا با دارا بودن اندازه نانومتری و قابلیت اصلاح ساختار آن‌ها با گروه‌های عاملی خاص قادر هستند به راحتی با



شکل ۱: جذب پرتوهای NIR و نشر آن‌ها در Vis و NIR توسط UCN [۴].

¹ Upconversion

² Near infrared (NIR)

³ Visible (Vis)

⁴ Ultraviolet (UV)

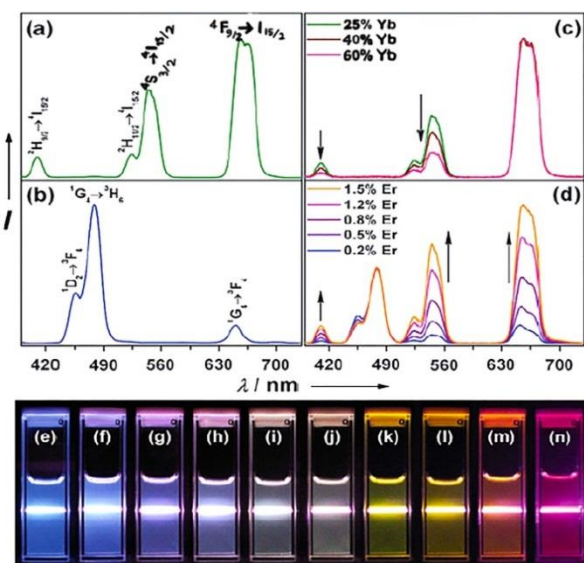
⁵ N. Bloembergen

⁶ Upconversion nanoparticle (UCN)

⁷ Auto-fluorescence

است توسط ارتعاشات شبکه میزبان جذب شود. تغییرات شبکه بلوری میزبان نیز می‌تواند میدان کریستالی اطراف یون‌ها را تغییر داده و موجب تغییر در خواص نوری لانتانیدها گردد. مواد میزبان باید در ناحیه طول موج مورد نظر شفاف و در مقابل نور مقاوم باشند. معمولاً از یون‌های خاکی نادر و تعدادی از یون‌های فلزات واسطه نظیر Ti^{4+} ، Mn^{2+} و Zr^{4+} به عنوان میزبان‌های معدنی استفاده می‌شود. سنتز UCN‌ها با شرایط کریستالی مطلوب با حرارت دادن مخلوط اجزا در دمای بالا و با مدت زمان طولانی انجام می‌شود [۴].

با استفاده از ترکیب درصدی مختلف یون‌های دوپ شده می‌توان طیف گسترده‌ای از رنگ‌های نشری را تولید کرد. رنگ و انرژی‌های مختلف این طیف‌های نشری به نوع ترکیب میزبان، اندازه و خواص سطحی ذرات بستگی دارد و با تغییر این ویژگی‌ها قابل تنظیم است (شکل ۲) [۹].



شکل ۲: ترکیب درصدی مختلف یون‌های دوپ شده و ایجاد طیف‌ها با انرژی‌های (رنگ‌ها) مختلف [۹].

۲-۲- شیمی سطح UCN‌ها

از لیگاندهای پوششی مختلفی در اصلاح سطح UCN‌ها برای جلوگیری از تجمع ذرات در محلول و همچنین کنترل رشد آن‌ها استفاده می‌شود. به علاوه جهت افزایش حلالیت این نانومواد در آب و زیست‌سازگار کردن آن‌ها اصلاحات سطحی متعددی نظیر اکسیداسیون لیگاند، تجمع لایه به لایه و پلیمریزاسیون سطح بر روی آن‌ها انجام می‌شود [۴، ۶، ۷، ۱۰].

فرایند UC با استفاده از لیزرهای طول موج پیوسته با ضریب قدرت کم ($1-10^3 \text{ Wcm}^{-2}$) ایجاد می‌شود و نیاز به لیزرهای پالسی با شدت ($10^6 - 10^9 \text{ Wcm}^{-2}$) و هزینه بالای مربوط به این لیزرها ندارد [۱۰].

در ادامه ساختار UCN‌ها و همچنین برخی کاربردهای آن‌ها در زمینه پزشکی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲- ویژگی‌های UCN‌ها:

۲-۱- اجزای تشکیل‌دهنده UCN‌ها:

UCN‌ها برای ایجاد یک نشر با شدت زیاد، نیاز به چندین سطح نیمه پایدار دارند به همین دلیل در ساختار آن‌ها از یون‌های دارای اوربیتال‌های f و d استفاده می‌شود و حداکثر بازده نشری آن‌ها، تنها با به کار بردن یون‌های لانتانیدی سه ظرفیتی در ساختار آن‌ها به دست می‌آید.

ساختار UCN‌ها معمولاً از یون‌های دوپ شده^۸ لانتانیدها در ساختمان بلوری میزبان‌های معدنی ساخته شده‌است، در واقع یون‌های لانتانیدی در شبکه میزبان جاسازی شده‌اند [۷].

کمپلکس‌های لانتانیدی دارای ماندگاری زیاد و جابه‌جایی استوک بزرگ هستند؛ این خواص نشری ناشی از انتقالات اوربیتال f-f آن‌ها می‌باشد. با توجه به اینکه اوربیتال 4f لانتانیدها توسط اوربیتال‌های خالی 5s و 5p محافظت می‌شود انرژی آن‌ها کمتر تحت تاثیر محیط اطراف قرار می‌گیرد. نشر ناشی از الکترون‌های داخلی موجود در اوربیتال 4f یون‌های لانتانیدی با حفظ پیوندهای شیمیایی صورت می‌گیرد که همین عامل موجب پایداری شیمیایی این نانوذرات در مقابل نور شده است و از سفید شدن نوری^۹ آن‌ها جلوگیری می‌کند [۸، ۱۰]. سفید شدن نوری فرایندی است که در اثر برخورد فوتون‌های نوری ساختار ترکیب فلونورسان‌دهنده تخریب می‌شود.

به لحاظ تئوری از اکثر یون‌های لانتانیدی می‌توان در فرایند UC استفاده کرد اما؛ اگر از یون‌های لانتانیدی نظیر Er^{3+} ، Tm^{3+} و Yb^{3+} استفاده شود بازده لومینسانس بیش‌تری خواهیم داشت [۷].

مواد میزبان مورد استفاده در این شبکه‌ها نیز از اهمیت بالایی برخوردارند چرا که، انرژی‌های تحریک یون‌های دوپ شده ممکن

⁸ Doping
⁹ Photobleaching

۳- مکانیزم عملکرد UCN ها:

۴- سمیت:

با توسعه استفاده از UCN ها در سیستم های بیولوژیکی ارزیابی خطرات احتمالی این نانوذرات برای انسان و سیستم های زنده از اهمیت بالایی برخوردار شده است.

سمیت این نانوذرات ممکن است به دلیل ترکیب شیمیایی آنها یا دلیل اندازه بسیار کوچکشان باشد، زیرا موانع بیولوژیکی در مقابل نفوذ آنها مقاومتی از خود نشان نمی دهند و همین موضوع موجب نفوذ بالا و همچنین افزایش احتمال تجمع UCN ها در بعضی از بافت ها می گردد. از دیگر نگرانی ها در مورد آنها واکنش پذیری سطحی بالا و همچنین نسبت سطح به حجم زیاد آنهاست که ممکن است تاثیر جدی بر زیست سازگاری این نانوذرات داشته باشد [۱۴].

نتایج اجرای آزمون هایی همچون MTS^{14} و MTT^{15} نشان داده است که نانوذرات لانتانیدی دوپ شده در طیف وسیعی از سلول های بنیادی غیرسمی اند. برای تعیین سمیت به بررسی پایداری سلول های در معرض نانوذرات در زمان و غلظت های مختلف می پردازند [۱۵].

لی^{۱۶} و همکارانش به بررسی سازگاری زیستی Yb/Er دوپ شده با فلئوریدهای حاکی نادر، پوشش داده شده با سیلیکا پرداختند. آن ها دریافتند پس از نشان نانوذرات بر روی سلول های KB ناحیه بینی انسان با غلظت 500 mg ml^{-1} برای ۲۴ ساعت ۹۰٪ این سلول ها زنده ماندند؛ که نشان از زیست سازگاری نسبتا بالای این نانوذرات دارد [۱۴].

در پژوهش دیگری همین گروه پژوهشی به بررسی سمیت UCN ها در دوره ای طولانی مدت پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که موش ها بعد از ۱۱۵ روز از تزریق وریدی 115 mg kg^{-1} از UCN ها بدون هیچ تاثیر ناسازگاری، زنده ماندند. این مطلب نشان دهنده قابلیت این نانوذرات برای مطالعات طولانی مدت است.

با این وجود ارزیابی تاثیر نانوذرات بر سلامت انسان و محیط زیست کار ساده ای نیست، زیرا علاوه بر پارامترهای مهم ذکر شده به ویژگی های دیگری که به تنهایی و یا با تاثیر بر یکدیگر تعیین کننده خواص سمی هستند بستگی دارد. ارزیابی سمیت UCN ها

در فرایندهای رایج لومینسانس به طور معمول یک حالت پایه و یک حالت برانگیخته وجود دارد، در صورتی که در فرایند UC با توجه به وجود اوربیتال های f و d در ساختار آنها چندین حالت نیمه پایدار وجود دارد و این فرایند از طریق انتقال انرژی بین یون های لانتانیدی مختلف نور را از ناحیه NIR به UV تبدیل می کند.

مکانیزم های متنوعی برای رخ دادن پدیده UC در ساختارهای مختلف UCN ها شناخته شده است؛ از جمله این مکانیزم ها جذب حالت برانگیخته $(ESA)^{17}$ ، UC انتقال انرژی $(ETU)^{18}$ ، بارش فوتونی $(PA)^{19}$ و UC تسهیل شده مهاجرتی انرژی $(EMU)^{20}$ هستند [۱۰، ۸، ۶]. جهت رعایت اختصار، صرفاً به بررسی مکانیزم رایج EMU در نانوذرات هسته-پوسته می پردازیم تا چگونگی انجام فرایند UC لومینسانس را بهتر بشناسیم.

۳-۱- UC انتقالی-واسطه ای انرژی (EMU):

در فرایند EMU، چهار نوع مرکز لومینسانس (حساس کننده، ذخیره ساز، انتقال دهنده و فعال کننده) با غلظت های مشخص در ساختار لایه ها قرار گرفته اند (شکل ۳a). برای درک عملکرد هر مرکز، ساختار نانوذره هسته-پوسته $\text{NaGdF}_4@\text{NaGdF}_4$ با حساس کننده Yb، ذخیره ساز Tm و فعال کننده X^{3+} (X= Tb, Eu, Dy, Sm) را در شکل ۳b نشان داده شده است [۱۲ و ۱۳].

مرحله اول فرایند EMU جهت افزایش جمعیت حالت برانگیخته رخ می دهد (شکل ۳a). در این مرحله با تابش یک فوتون با انرژی کم، یون حساس کننده و ذخیره ساز به حالت برانگیخته خود (تراز E_1) می روند و سپس یون حساس کننده بدون هیچ تابشی و تنها از طریق برهمکنش دوقطبی-دوقطبی، انرژی خود را به یون ذخیره ساز می دهد که موجب برانگیختگی دوباره یون ذخیره ساز و انتقال آن به لایه برانگیخته E_2 می گردد. در نهایت با انتقال انرژی از یون ذخیره ساز به انتقال دهنده و در نهایت انتقال آن به یون فعال کننده، سطح فعال کننده دارای جمعیت شده و با یک نشر پر انرژی از سطح برانگیخته E_2 به حالت پایه G برمی گردد. در نتیجه این فرایند، پرتوها در ناحیه UV یا مرئی بسته به ساختار UCN مورد استفاده نشر خواهد شد.

¹⁴ Methylthiazolyl tetrazolium

¹⁵ 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium

¹⁶ Li

¹⁰ Excited-state absorption

¹¹ Energy transfer upconversion

¹² Photon avalanche

¹³ Energy migration-mediated upconversion

تک فوتونه ($^{18}\text{SPCET}$) و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (^{19}MRI).

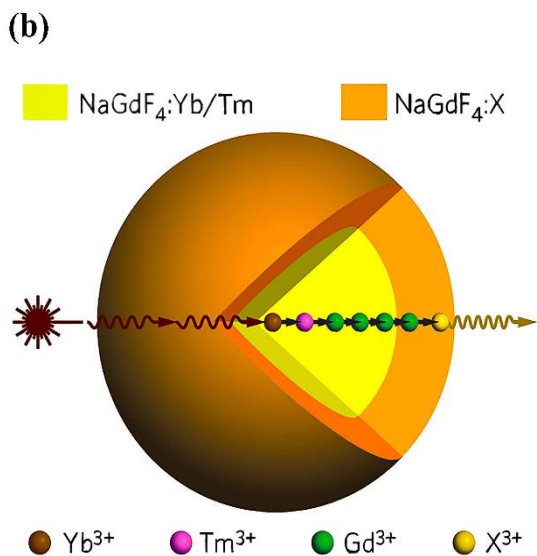
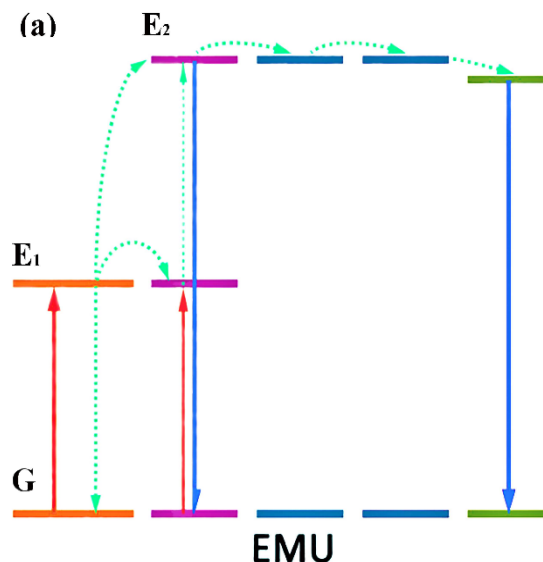
این تکنیک‌ها از نظر عمق نفوذ نسبت به دیگر روش‌های تصویربرداری برتری دارند. اما برخی از آنها دارای محدودیت‌هایی نظیر قدرت تفکیک پایین، عدم پویایی تصویر و همچنین استفاده از مواد رادیواکتیو هستند. به همین دلیل توسعه روش‌های جدید تصویربرداری یک از زمینه‌های جذاب پژوهشی در دنیا است. در بین تکنیک‌های جدید تصویربرداری پزشکی، تصویربرداری با زیست‌داروهای نوری^{۲۰} به دلیل پاسخ سریع، حساسیت و وضوح بالا پیشرفت‌های قابل توجهی داشته است.

پیشرفت‌های اخیر در این زمینه موجب توسعه مواد فلئورسانسی همچون ملکول‌های رنگی و نقاط کوانتومی (^{21}QD) گشته است. البته مواد فلئورسانس معمول نیز معایبی دارند که موجب محدودیت این مواد در تصویربرداری‌های با وضوح بالا می‌گردد [۱۵و۵].

بیشتر مواد دارای فلئورسانس مانند ملکول‌های رنگی، نقاط کوانتومی (^{22}QD) و نانومواد طلا نور را با فرایند مبدل پایین^{۲۲} منتشر می‌کنند، بنابراین برانگیختگی آن‌ها در ناحیه Vis و UV صورت می‌گیرد که موجب کاهش حساسیت و نسبت سیگنال به نویز (S/N) می‌گردد. همچنین استفاده از فوتون‌های ناحیه UV و UV شدید می‌توانند موجب ایجاد جهش و برانگیختگی در نمونه گردد [۱۸و۲].

به علاوه ملکول‌های رنگی برای تصویربرداری طولانی مدت به علت سفید شدن سریع مناسب نیستند. QD ها نیز دارای اجزای بسیار سمی هستند که کاربرد آن‌ها را جهت تصویربرداری از بافت‌ها محدود می‌کند. البته QD های جدید عاری از عناصری همچون کادمیوم هستند ولی به دلیل برانگیختگی در طول موج-های بلند ($< 700 \text{ nm}$) اثربخشی نشر آن‌ها به شدت کاهش می‌یابد. برای درک وابستگی طول موج به عمق نفوذ به بافت‌ها باید عوامل مختلفی را در نظر گرفت. از عواملی که موجب محدودیت نفوذ به عمق بافت‌ها می‌گردد جذب و پراکندگی فوتون‌ها به واسطه بافت‌ها و آب است. این محدودیت در منطقه تصویربرداری با مواد فلئورسانس معمول ($400\text{--}750 \text{ nm}$) بسیار شدید است که به موجب آن عمق نفوذ در ناحیه مرئی تنها حدود

به مطالعات بیش‌تری نیازم دارد زیرا هنوز تصویر روشنی از اثرات مختلف این نانوذرات بر نسل‌های آینده مصرف کننده آن‌ها و همچنین چگونگی پاک شدن کامل آن‌ها از بافت‌هایی همچون کبد، طحال و ریه‌ها وجود ندارد [۵].



شکل ۳: توصیفی از فرایند EMU (a)، ترازهای انرژی در UCN (b)، فرایند تبدیل برانگیختگی NIR به نشر UV [۱۳].

۵- تصویربرداری:

تکنیک‌های تصویربرداری رایج که امروزه در علم پزشکی پرتونگاری نشری پوزیترون (^{17}PET)، پرتونگاری نشری محاسباتی

¹⁸ Single-photon emission computed tomography

¹⁹ Magnetic resonance imaging

²⁰ Optical biomedical

²¹ Quantum Dot

²² Downconversion nanoparticle

¹⁷ Positron emission tomography

۱-۳mm است. برای حل این مشکل باید در ناحیه پنجره شفافیت زیستی یا پنجره NIR (۷۵۰-۹۰۰nm) کار کنیم.

با توجه به اینکه UCN ها می توانند در ناحیه NIR برانگیخته شده و در ناحیه NIR نیز نشر داشته باشند، بازده کوانتومی لومینسانس بالایی داشته و با جذب فوتون های کم انرژی، نشر لومینسانس شدیدی از خود نشان می دهند [۵]. خودفلئورسانس بسیار کم، عمق نفوذ بالا، طول عمر زیاد، انتشار قابل تنظیم، پایداری تصویری بالا و سمیت جزئی آن ها موجب گسترش کاربرد آن ها برای تصویربرداری زیستی و پزشکی می گردد [۸، ۹، ۱۴ و ۱۵].

شان^{۲۳} و همکاران به مطالعه سلول های مزوتریلوم AB12 موش پرداخته و سیگنال های دریافتی ناشی از UCN های منفرد را گزارش داده اند. در پژوهش دیگری نادورت^{۲۴} و همکاران سیگنال های ناشی از UCN های منفرد در یک قطره خون را با استفاده از میکروسکوپ لومینسانس ثبت کردند [۱۰].

با توجه به اثر محوشدگی کم UCN ها می توان از آن ها برای مشاهده طولانی مدت سلول ها و بنابراین تصویربرداری در طی عمل جراحی استفاده کرد [۲].

از این نانوذرات با موفقیت به عنوان عامل تصویربرداری با وضوح بالا در تصویربرداری از بدن حیوانات استفاده شده است (شکل ۵). شیانگ^{۲۵} و همکاران از یک روش تصویربرداری برپایه UCN ها برای تصویربرداری از تومورهای یک موش بهره بردند که در آن سیگنال خودفلئورسانسی حتی در عمق نفوذ قابل توجه هم دیده نشد [۱۶ و ۱۷].

با این حال UCN ها نیز عمق نفوذ چندانی نسبت به تکنیک هایی همچون MRI ندارند بنابراین، ترکیبی از تصویربرداری نوری مبتنی بر UCN ها و تصویربرداری پرتونگاری مقطعی می تواند یک رویکرد مناسب برای از بین بردن مشکلات تکنیک های تصویربرداری پزشکی، تلفیق توانایی های آن ها و دستیابی به تصاویری با وضوح بالا باشد. به عنوان مثال، از UCN های دوپ شده با Gd به عنوان مواد کنتراست دوگانه برای MRI و تصویربرداری نوری استفاده شده است. UCN های دوپ شده با Gd، Yb- و Lu- که دارای عدد اتمی بالاتر و ضریب اشعه ایکس قوی تری هستند، به عنوان عامل کنتراست MRI، CT و تصویربرداری نوری عالی عمل کرده اند. علاوه بر این،

رادیونوکلئیدهایی^{۲۶} مانند ^{18}F و ^{153}Sm ، با قابلیت تصویربرداری PET یا SPECT نیز می توانند به راحتی به شبکه UCN ها دوپ شوند. در نتیجه با استفاده از ترکیب تکنیک های تصویربرداری می توان به تصاویر دقیقی با حساسیت بالا دست یافت [۱۲ و ۱۳]. برای مثال می^{۲۷} و همکاران با استفاده از نانوکامپوزیت های دوکاربردی مغناطیسی/UCN ساخته شده از نانوذرات Fe_3O_4 متصل به کربوکسیل، UCN های پوشش داده شده با سیلیکای متصل به عامل آمینی و نانوکامپوزیت ها برای تصویربرداری از سلول های هلا^{۲۸} استفاده کردند [۱۹ و ۲۰].

۶- آزمون های زیستی:

تشخیص بسیار حساس و تجزیه و تحلیل دقیق مولکول های متنوع زیستی، در زیست شناسی و علوم پزشکی، از اهمیت بالایی برخوردار است. UCN ها دارای خودفلئورسانس بسیار کم و بنابراین دارای حد تشخیص بسیار مطلوب هستند. این نانوذرات همچنین دارای تغییرات آنتی استوک بزرگ و طول عمر طولانی هستند که موجب افزایش نسبت S/N آن ها می گردد. خواص نوری UCN ها مستقل از محیط است.

به طور معمول آزمایش های زیستی روش هایی هستند که می-توانند غلظت، خلوص و یا فعالیت زیستی یک ماده مانند یک ویتامین، هورمون و... را با اندازه گیری اثر آن بر ارگانیسم، بافت، سلول، آنزیم و یا یک گیرنده تعیین کنند. این آزمون ها ممکن است کیفی یا کمی باشند. از جمله مهم ترین آزمون های زیستی تشخیص بسیار حساس و دقیق نشانگرهای زیستی سرطانی در نمونه های مایع انسانی است. شناسایی به موقع این نشانگرها می-تواند باعث افزایش کارایی درمان و در نتیجه افزایش طول عمر بیمار گردد. برای رسیدن به این هدف در دهه گذشته پژوهشگران به توسعه ذرات فلئورسانس دهنده پرداخته اند. این آزمون ها براساس شکل های مختلف تشخیص سیگنال، به دو دسته آزمایش-های زیستی ناهمگن و همگن تقسیم می شوند.

²⁶ Radionuclide

²⁷ Mi

²⁸ Hela cells

²³ Shan

²⁴ Nadort

²⁵ Xiong

سطحی، گروه‌های عاملی آمین را بر روی آن‌ها به عنوان سایت‌های پیوندی برای آنتی‌بادی‌ها نشان‌دهند. سپس این ذرات را برای اندازه‌گیری هورمون کوریونیک گونادوتروپین^{۳۰} به کار بردند [۲۰]. حد تشخیص اندازه‌گیری هورمون کوریونیک گونادوتروپین برابر ۱۰pg در یک نمونه ۱۰۰ میلی‌لیتری به دست آمد. نتیجه به دست آمده نشان از حساسیت بالای این آزمون نسبت به روش‌های قدیمی استفاده از دانه‌های رنگی داشت.

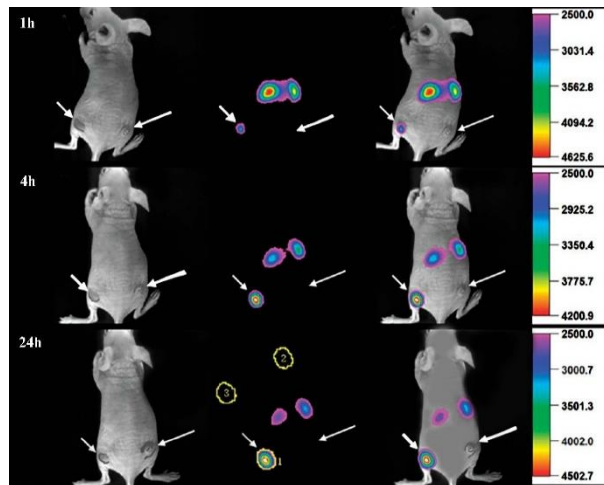
۲-۱-۶- رقابتی:

این روش به طور معمول برای اندازه‌گیری مولکول‌های کوچک به کار می‌رود.

در این روش برخلاف روش ساندویچی، این آنالیت است که با نانوذرات نشانه‌گذاری می‌شود و رقابتی بین ملکول‌های آنالیت آزاد و ملکول‌های آنالیت نشانه‌گذاری شده جهت اتصال به ملکول‌های جاذب روی سطح سوبسترا به وجود می‌آید که در نهایت با تابش نور، فلوئورسانس مربوط به UCN های باقی‌مانده بر روی سطح اندازه‌گیری می‌شود. دقت شود در این حالت سیگنال فلوئورسانس اندازه‌گیری شده متناسب با عکس غلظت آنالیت موجود در نمونه مجهول است زیرا هرچه آنالیت موجود در نمونه بیشتر باشد در یک فرایند رقابتی جای کم‌تری برای گونه‌های حاوی UCN جهت باقی ماندن بر روی سطح باقی می‌ماند (شکل ۶b).

۲-۲- آزمون همگن:

آزمون‌های همگن به دلیل حذف مرحله شستشو نسبت به ناهمگن‌ها سریع‌ترند. در این روش به طور همزمان UCN ها و ملکول‌هایی که به عنوان پذیرنده انرژی از UCN ها عمل می‌کنند حضور دارند. همان‌طوری که در شکل ۶c نشان داده شده است در غیاب ملکول زیستی (آنالیت) انتقال انرژی از UCN ها به ملکول پذیرنده ممکن نیست. ولی در حضور آنالیت با ایجاد یک پل ارتباطی بین UCN ها و ملکول پذیرنده انتقال انرژی ممکن می‌شود. در نتیجه‌ی این انتقال انرژی، انرژی خود را به برانگیخته به جای تولید نشر فلوئورسانس، انرژی خود را به پذیرنده منتقل می‌کند، در نتیجه شدت نشر فلوئورسانس آن‌ها کاهش می‌یابد. لذا میزان کاهش فلوئورسانس UCN ها متناسب با غلظت ملکول زیستی مورد اندازه‌گیری است [۱۵، ۷، ۵].



شکل ۵: تصویربرداری در طی زمان از تومور UCN^۷MG (پایین سمت چپ) و تومور MCF-^۷ (پایین سمت راست)، تزریق داخل وریدی نانوذرات NaYF₄:Yb/Er/Tm، برای ۴، ۱ و ۲۴ ساعت [۱۷].

۱-۶- آزمون زیستی ناهمگن:

۱-۱-۶- ساندویچ:

از روش ساندویچی جهت اندازه‌گیری غلظت ملکول‌های بزرگ دارای چند سایت اتصال استفاده می‌شود.

در این روش در مرحله اول مولکول‌های جاذب بر روی سوبسترای جامد تثبیت می‌شوند. بعد از یک مرحله شستشو که برای از بین رفتن سایر گونه‌های زیستی انجام می‌شود؛ نمونه حاوی مولکول‌های آنالیت از روی بستر حاوی جاذب عبور داده می‌شود تا آنالیت توسط مولکول‌های جاذب جذب شود. سپس UCN های که از قبل دارای گروه‌های عاملی مناسب جهت ایجاد برهمکنش انتخابی با آنالیت هستند از روی بستر حاوی آنالیت عبور می‌دهند. در ادامه بستر شستشو می‌شود تا UCN های که برهمکنش پیوندی با آنالیت ندارند شسته شوند و آنچه می‌ماند شامل UCN هایی باشد که با آنالیت پیوند دارد. با توجه به اینکه همراه هر ملکول آنالیت تثبیت شده، UCN وجود دارد هر چه غلظت ملکول آنالیت بیشتر باشد سیگنال فلوئورسانس مشاهده شده از UCN های باقی‌مانده بر روی سطح هم بیشتر است (شکل ۶a).

در یک مدل ساندویچی، کوپر^{۲۹} و همکاران از UCN های با ترکیب (YbEr)₂O₂S و (YbTm)₂O₂S استفاده کردند. آنها پس از پوشش دادن این ذرات با سیلیس و انجام اصلاحات

³⁰ Chorionic gonadotropin

²⁹ Cooper

۷- مبدل نور برای درمان سرطان:

در دهه گذشته درمان سرطان با استفاده از کارکردهای مختلف پرتوهای نور بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، چرا که با طراحی مناسب می توان از انرژی پرتوهای نور جهت آزادسازی ترکیبات مختلف درمانی همچون مواد حساس به نور، داروهای شیمی درمانی، پروتئین ها و ژن ها با دقت زیاد و در زمان و مکان مورد نظر استفاده کرد. با این حال، در حال حاضر اکثر ترکیبات درمانی، حساس به نور UV و Vis هستند که حتی گاهی ممکن است پرتوهای UV با برخورد به رنگدانه های پوستی موجب جهش DNA و بنابراین ایجاد تومور گردند. UCN ها که می توانند پرتوهای NIR را به UV تبدیل کنند که عامل خوبی جهت درمان با نور هستند؛ زیرا پرتوهای NIR آسیب نوری کمتری به بافت می زنند و همچنین در بافت عمق نفوذ بیشتری داشته و خودفلئورسانس کمتری دارند. به علاوه UCN های آبدوست می-توانند داروها را به راحتی در بافت ها حمل کنند و بنابراین بر توانایی هدفگیری دقیق تر تومورهای سرطانی بیفزایند، در حقیقت UCN ها با جذب پرتوهای NIR از منبع بیرونی و نشر آن در داخل سلول به صورت طول موج های UV و Vis می توانند انرژی لازم جهت تولید گونه های فعال اکسیژن در درون سلول سرطانی فراهم کنند [۱۸].

درمان فتودینامیک (PDT)^{۳۱} به عنوان یکی از درمان های موثر، غیرمخرب و اقتصادی برای سرطان شناخته می شود؛ در این روش سلول های سرطانی را با برخی از مواد شیمیایی حساس به نور (PS)^{۳۲} از بین می برند. از بین بردن سلول های سرطانی توسط PDT ها در سه مرحله انجام می شود: (۱) جذب گزینشی ماده شیمیایی حساس به نور در سلول های تومور، (۲) تاباندن پرتویی با شدت های متغیر جهت فعال کردن ماده حساس به نور، (۳) تولید گونه های فعال اکسیژن دار در درون سلول سرطانی که باعث مرگ سلول سرطانی با کمترین تاثیر بر بافت های اطراف می شود [۳].

UCN ها برای استفاده در PDT ها مناسبند؛ برای این کار از UCN هایی مانند کامپوزیت PS-UCN استفاده می کنند. نانوذرات مبتنی بر UC می تواند باعث افزایش حلالیت، پایداری، افزایش نیمه عمر و افزایش توانایی هدفگیری PDT ها گردند. این نانوذرات می توانند مواد حساس به نور را که اکثراً در آب حلالیت کمی دارند و یا نامحلولند با خود به درون بافت ها حمل کنند؛ البته برای حمل این مواد حساس توسط UCN ها روش های مختلفی وجود دارد که متناسب با عملکرد دارو انتخاب می شوند.

در واقع زمانی که از UCN ها استفاده می کنیم حتی نیازی به آزادسازی PS ها نداریم چرا که بدون آزادسازی آن ها نیز گونه های اکسیژن فعال می توانند آزاد شوند [۱۹ و ۲۱].

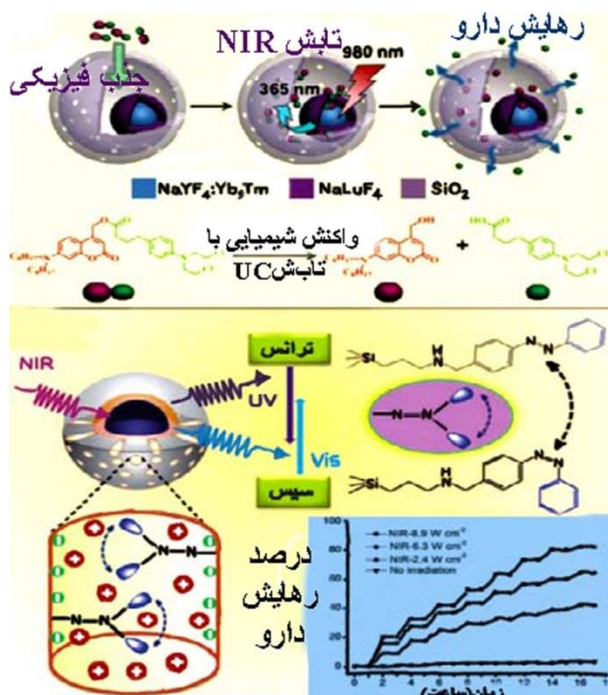
آزادسازی داروها از طریق محرک های خارجی و یا داخلی همچون دما، PH، گرادیان غلظتی و همچنین گونه های بازدارنده کنترل می گردد. برای مثال لین^{۳۳} و همکاران DOX^{۳۴} را که معمولاً در داروهای ضدسرطان به کار می رود، از طریق پیوند کووالانسی به نانوذرات NaYF₄:Yb/Tm UCN متصل کرده و با تنظیم PH آزادسازی آن را کنترل کردند. در واقع PH اسیدی (PH=۵) موجب گسستن سریع تر پیوند و بنابراین آزادسازی دارو می گردد در صورتی که این پیوند در محیط خنثی (PH=۷) کاملاً پایدار است [۵].

در مورد دیگری داروها از طریق تابش نور UV و یا Vis آزاد می گردند که در این مورد UCN ها از طریق جذب در ناحیه NIR و نشر در نواحی نوری UV-Vis موجب آزادی دارو می گردند. برای مثال شی^{۳۵} و همکاران از طریق مطالعه آزمون های نشانده شده درون پوسته متخلخل موجود بر روی سطح لیگاند های آزاد NaYF₄:Yb/Tm@NaYF₄ به بررسی این پدیده پرداختند. آزمون های که دارای ساختار «N=N-» متصل به حلقه های فنیل است؛ با تابش نور UV از حالت ترانس به سیس

کووالانسی به نانوذرات NaYF₄:Yb/Tm UCN متصل کرده و با تنظیم PH آزادسازی آن را کنترل کردند. در واقع PH اسیدی (PH=۵) موجب گسستن سریع تر پیوند و بنابراین آزادسازی دارو می گردد در صورتی که این پیوند در محیط خنثی (PH=۷) کاملاً پایدار است [۵].

³³ Lin
³⁴ Doxorubicin
³⁵ Shi

³¹ Photodynamic therapy
³² Photosensitizer



شکل ۸: آزادسازی دارو (a) جاسازی دارو در پوسته متخلخل نانوذرات، (b) رهائش دارو با چرخش پروانه ملکولی، (c) نمودار درصد رهائش دارو/زمان [۲۲].

۸- نتیجه‌گیری:

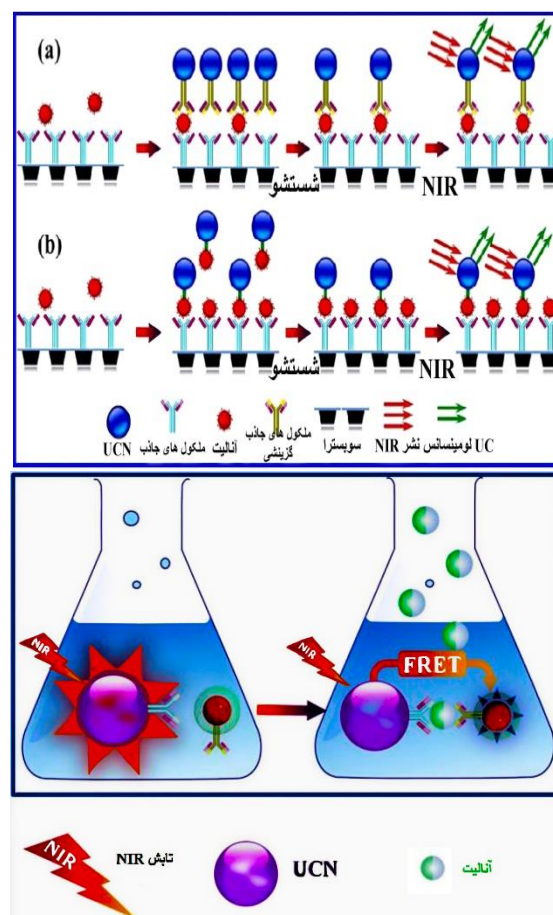
UCN‌ها برای تصویربرداری زیستی، درمان سرطان و آزمون‌های زیستی و رهائش کنترل شده دارو استفاده می‌شوند. این تکنیک از عمق نفوذ کمتری نسبت به MIR برخوردار است و بنابراین به تنهایی می‌تواند صرفاً در بررسی و درمان تومورهای سطحی استفاده شوند. اگر UCN‌ها همراه با تکنیک‌هایی همچون MIR استفاده شوند می‌توانند برای تصویربرداری در عمق نیز استفاده شوند.

مطالعات درباره سمیت این نانوذرات باید به طور دقیق‌تر صورت گیرد تا مشکلات احتمالی آن‌ها جهت کاربرد بر روی انسان رفع گردد.

تحقیقات بر روی این نانوذرات هنوز ناقص است و بنابراین آن‌ها می‌توانند در آینده با رفع مشکلات احتمالی جایگزین خوبی به جای روش‌های موجود در تصویربرداری و درمان سرطان باشند.

۹- منابع:

[1] V. D. Matthew, D. Samer, H. Yi, J. K. Ulrich, *Analytica Chimica Acta*, 832, 1-33, (2014).



شکل ۶: آزمون‌های زیستی: (a) آزمون ناهمگن ساندویچی، (b) آزمون ناهمگن رقابتی، (c) آزمون زیستی همگن [۱۵].

در مورد دیگری داروها از طریق تابش نور UV و یا Vis آزاد می‌گردند که در این مورد UCN‌ها از طریق جذب در ناحیه NIR و نشر در نواحی نوری UV-Vis موجب آزادی دارو می‌گردند. برای مثال شی^{۳۶} و همکاران از طریق مطالعه آزمون‌های نشانده شده درون پوسته متخلخل موجود بر روی سطح لیگندهای آزاد NaYF₄:Yb/Tm@NaYF₄ به بررسی این پدیده پرداختند. آزمون‌ها که دارای ساختار «N=N-» متصل به حلقه‌های فنیل است؛ با تابش نور UV از حالت ترانس به سیس و پس از تابش نور Vis از حالت سیس به ترانس تبدیل می‌گردد؛ بنابراین با توجه به این ویژگی، پس از پر کردن پوسته متخلخل نانوذره با DOX با تابش همزمان نور UV و Vis از طریق UCN‌ها، آزمون‌ها به صورت یک پروانه ملکولی عمل کرده و با چرخش سریع خود موجب آزادسازی دارو می‌گردد (شکل ۷) [۲۲].



- [20] H. J. Hall, M. Mufti, N.A. Yao, M. Queen, D.B. Wright, W.H., Cooper, D.E., *Anal. Biochem.* 288, 176-187, (2001).
- [21] L.Y. Ang, M. E. Lim, L. C.Ong, Y.Zhang, *Nanomedicine*, 6, 1273-1288, (2011).
- [22] D. Yang, P. Ma, Z. Hou, Z. Cheng, C. Li, J. Lin, *Chem. Soc. Rev.*, 44, 1416-1448, (2015).
- [2] S. Wang, J. Feng, S. Song, H. Zhang, *CrystEngComm*, 15, 7142-7151, (2013).
- [3] X. Wu, G. Chen, J. Shen, Z. Li, Y. Zhang, G. Han, *Bioconjugate Chem.*, 26, 166-175, (2015).
- [4] I. Martini, S. V. Eliseeva, S. Petoud, *Journal of Luminescence*, 189, 19-43, (2017).
- [5] F. Zhang, *Photon Upconversion Nanomaterials*. London. Lockwood D. J. (2015).
- [6] F. Wang, X. Liu, *Chemical Society Reviews*, 38, 976-989, (2009).
- [7] Y. Liu, D. Tu, H. Zhu, X. Chen, *Chem. Soc. Rev.*, 42, 6924-6958, (2013).
- [8] F. Wang, D. Banerjee, Y. Liu, X. Chen, X. Liu, *Analyst Interdisciplinary detection science*, 8, 1797-2160, (2010).
- [9] H. H. Gorris, O. S. Wolfbeis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 3584-3600, (2013).
- [10] E.A.Grebenik, A.B.Kostyuk, S.M.Deyev, *Russ. Chem. Rev.*, 85, 1277-1296, (2016).
- [11] A. Nadort, J. Zhao, E. M. Goldys, *Nanoscale*, 8, 13099-13130, (2016).
- [12] H. Dong, L. Sun, Ch. Yan, *Chem. Soc. Rev.*, 44, 1608-1634, (2015).
- [13] F. Wang, R. Deng, J. Wang, Q. Wang, Y. Han, H. Zhu, X. Chen, X. Liu, *Nature Materials*, 10, 968-973, (2011).
- [14] A. Gnach, T. Lipinski, A. Bednarkiewicz, J. Rybka, J. A. Capobianco, *Chem. Soc. Rev.*, *Chem. Soc. Rev.*, 44, 1561-1584, (2015).
- [15] G. Chen, H. Qiu, P. N. Prasad, X. Chen, *Chem. Rev.*, 114, 5161-5214, (2014).
- [16] L. Xiong, Z. Chen, Q. Tian, T. Cao, C. Xu, F. Li, *Anal. Chem.*, 81, 8687-8694, (2009).
- [17] H. S. Mader, P. Kele, S. M. Saleh, O. S. Wolfbeis, *Current Opinion in Chemical Biology*, 14, 582-596, (2010).
- [18] G. J. CLYDESDALE, G. W. DANDIE, H. K. MULLER, *Immunology and Cell Biology*, 79, 547-568, (2001).
- [19] Z. Gu, L. Yan, G. Tian, S. Li, Z. Chai, Y. Zhao, *Adv. Mater.*, 25, 3758-3779, (2013).