

• проектирование и разработка графического интерфейса пользователя программы, методов инкапсуляции программы в динамическую библиотеку или в пакет расширения некоторых языков программирования.

Мы выделили следующие этапы разработки:

• проектирование, написание программного кода, отладка и тестирование программного обеспечения для построения множеств обобщенных линейных моделей на выборках ограниченного объема в медицинских исследованиях;

• проектирование, написание программного кода, отладка и тестирование программного обеспечения для построения множеств мультиномиальных логистических моделей на выборках ограниченного объема в медицинских исследованиях;

• проектирование, написание программного кода, отладка и тестирование программного обеспечения для построения множеств моделей выживаемости в медицинских исследованиях на выборках ограниченного объема;

• проектирование, написание программного кода, отладка и тестирование программного обеспечения для построения множеств моделей множественной регрессии с использованием метода параллелизации вычислений, а также с использованием графического ускорителя;

• проектирование и создание графического интерфейса пользователя, реализация динамической библиотеки и пакета расширения на основании уже разработанного программного обеспечения для инкапсуляции кода.

Полученные результаты позволят впервые в практике медицинских научных исследований в Беларуси получить компьютерную программу (или модуль, который может служить расширением другой программы), позволяющую методом перебора проанализировать все возможные модели множественной регрессии в случае, когда количество предикторов больше объема выборки.

Разработанную программу предполагается свободно распространять как самостоятельный продукт, как динамическую библиотеку и как пакет расширения. Программа будет полезна исследователям в области медицинской статистики при анализе данных пилотных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева, И. В. Разработка методики прогнозирования с использованием корреляционно-регрессионного анализа / И. В. Андреева, М. Ю. Червякова // Экономический анализ: теория и практика. – 2013. – № 3 (19). – С. 58–61.

2. Черкашина, Ю. А. Применение регрессионного анализа в задаче диагностирования состояния здоровья детей / Ю. А. Черкашина // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1 (1). – С. 123–127.

3. Чернов, Н. А. Выявление и оценка зависимости показателей социально-экономического развития территорий с помощью методов корреляционно-регрессионного анализа // Новая наука: проблемы и перспективы. – 2016. – № 121 (1). – С. 254–257.

4. Bollerslev, T. Generalized autoregressive conditional heteroscedasticity // Journal of Econometrics. – 1986. – Vol. 31. – P. 307–327.

5. Сиднеева, Л. В. Применение методов регрессионного анализа в биометрических исследованиях / Л. В. Сиднеева, Н. Н. Медведева, В. Г. Николаев, Н. Н. Стрелкович, И. И. Орлова // Вестник новых медицинских технологий, Тула. 2013. – № 2. – С. 216–219.

ЭФФЕКТ ШТАРКА И НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ CdSe/ZnS ДЛЯ СУБКЛЕТОЧНОГО ЗОНДИРОВАНИЯ ЛОКАЛЬНОГО pH

STARK EFFECT AND CdSe / ZnS NANOPARTICLES FOR SUBCELLULAR SENSING OF LOCAL pH

И. Г. Мотевич¹, Н. Д. Стрекаль², С. А. Маскевич²

I. Motevich¹, N. Strekal², S. Maskevich²

¹Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,
г. Гродно, Республика Беларусь,
i.motevich@grsu.by

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

¹Grodno State University, Grodno, Republic of Belarus

²Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Предложен оригинальный метод анализа параметров флуоресценции наночастиц CdSe/ZnS в модельных водных системах и тканях толстого кишечника на основании эффекта Штарка, создаваемого локальными электрическими полями ближайшего (двойной слой Гельмгольца) микроокружения. Обсуждается механизм отклика наночастиц в водных средах с выраженными щелочными или кислотными свойствами,

а также в клетках доброкачественных или злокачественных новообразований, как следствие изменения их дипольного момента или поляризуемости. Интерпретация данных в терминах штарковской спектроскопии подтверждается данными время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии.

An original method for analyzing the fluorescent parameters of CdSe/ZnS nanoparticles in model aqueous systems and colon tissues based on the Stark effect created by local electric fields of the nearest (Helmholtz double layer) microenvironment are proposed. The mechanism of nanoparticle response in aqueous media with strong alkaline or acidic properties as well as in benign or malignant neoplasms as a result of its dipole moment or polarizability changes is discussed. Interpretation of data in terms of Stark spectroscopy is confirmed by time-resolved fluorescence spectroscopy data.

Ключевые слова: наночастицы CdSe/ZnS, конфокальная флуоресцентная микроскопия, эффект Штарка, раковые клетки.

Keywords: CdSe / ZnS nanoparticles, confocal fluorescence microscopy, Stark effect, cancer cells.

Электрофизическое состояние органов, тканей, отдельных компонентов и даже белков клетки представляет на сегодняшний день одну из актуальных задач медицинской физики. В связи с прогрессом развития нанотехнологий в применении к медицине появилась новая отрасль медицины – наномедицина. Одним из преимуществ наномедицинских методов является создание так называемых нанозондов, способных транслировать информацию о процессах в биологических тканях с пространственным разрешением, которое ограничено только используемым методом регистрации. В данной работе речь пойдет об одном из способов контроля локального pH, основанном на методе штарковской спектроскопии и конфокальной флуоресцентной микроскопии.

Эффектом Штарка называют влияние внешнего однородного электрического поля на спектры поглощения и излучения хромофоров. Очень часто для описания этого явления в литературе, особенно в литературе по химии, можно встретить термины «электрохромизм», «электропоглощение», «электро-оптическое поглощение» или абсорбционная штарковская спектроскопия. Этот экспериментальный метод находит свое применение в исследованиях электронных переходов в молекулах, кристаллических материалах и сложных биологических системах. Метод штарковской спектроскопии позволяет находить непосредственно из анализа формы линий электронных переходов два основных параметра – изменение дипольного момента $\Delta\mu$ и поляризуемости $\Delta\alpha$ молекул, ответственных за электронный переход из начального в конечное состояние. Оба параметра несут физическую информацию о распределении зарядов и поляризуемости электронной системы. Необходимым аксессуаром штарковской спектроскопии является источник внешнего электрического поля на этапе калибровки метки и измерение спектра метки, локализованной в модельной и биологической системе, что и является целью настоящей работы.

В качестве нанозондов [1] нами были использованы флуоресцирующие наночастицы (НЧ) CdSe/ZnS. Исходные гидрофобные CdSe/ZnS НЧ размерами 3,2 и 4,0 нм любезно предоставлены М. В. Артемьевым, доктором химических наук, заведующим лабораторией нанохимии НИИ физико-химических проблем БГУ. Перенос частиц из гидрофобной в гидрофильную среду был осуществлен на границе раздела фаз двух несмешивающихся жидкостей (водный раствор цистеина – хлороформ) по оригинальной запатентованной методике [2]. В результате такой солюбилизации на поверхности НЧ формируется монослой цистеина и благодаря наличию концевой ионогенной группы NH_3^+ они становятся катионными флуоресцентными нанозондами.

На рис. 1 приведены спектры поглощения и флуоресценции водных растворов НЧ при разных значениях pH.

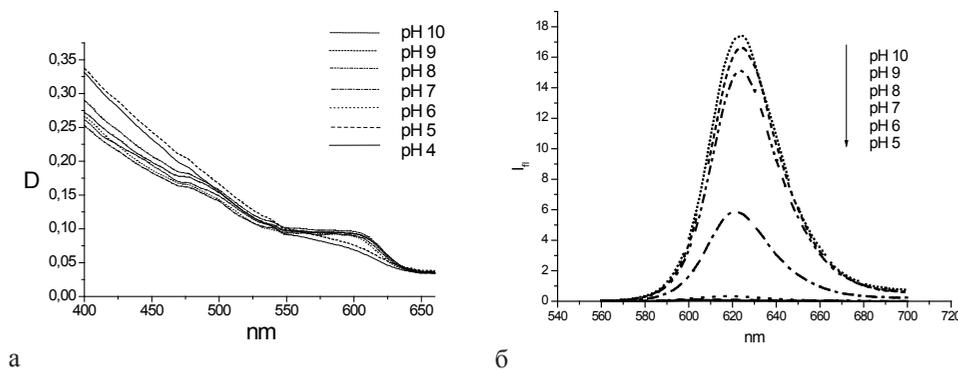


Рисунок 1 – Спектры поглощения и флуоресценции водных растворов НЧ при разных значениях pH, длина волны возбуждения флуоресценции 550 нм

Рассмотрим эффекты влияния pH на спектры поглощения и флуоресценции НЧ в модельных системах. Спектр поглощения НЧ чувствителен к изменению pH (рис 1, а). При уменьшении величины pH в диапазоне от pH 6 до pH 5 амплитуда экситонного пика на длине волны 590 нм уменьшается, а при дальнейшем уменьшении до pH 4 (увеличении концентрации катионов H^+ в растворе) практически исчезает (рис 1, а).

Необходимо отметить, что интенсивность и положение максимума спектра флуоресценции НЧ также очень чувствительны к pH среды (рис.1, б), однако ширина спектра флуоресценции наночастиц не изменяется.

Максимум полосы флуоресценции НЧ при нейтральных рН приходится на 621 нм. При переходе в кислую среду наблюдается тушение и значительное смещение максимума флуоресценции НЧ в коротковолновую область. При увеличении величины рН в диапазоне от рН 7 до рН 10 наблюдается противоположная тенденция: интенсивность возрастает, а максимум полосы свечения НЧ смещается в длинноволновую область на 4 нм. Таким образом, коротковолновое и длинноволновое смещение максимума флуоресценции НЧ может быть следствием влияния ионов двойного слоя Гельмгольца у их поверхности, структура которого меняется в зависимости от рН раствора.

Рассмотрим изменения в спектрах НЧ в рамках физической модели как результат изменения локального электрического поля, вызванного сольватированными ионами у их поверхности, при разных значениях рН растворов. Спектр Штарка представляет собой разницу между спектрами поглощения НЧ во внешнем электрическом поле (при разных значениях рН водных растворов) и спектром поглощения НЧ при отсутствии поля (в неполярном растворителе, например в хлороформе). Спектр Штарка при этом может быть представлен суперпозицией спектра поглощения, его первой и второй производной.

Изменение частоты перехода $\Delta\nu$ молекулы из начального в конечное состояние во внешнем электрическом поле, напряженностью \vec{E} , может быть представлено в виде: $\Delta\nu = -\Delta\vec{\mu} \cdot \vec{E} - 1/2\vec{E} \cdot \Delta\alpha \cdot \vec{E}$. Если переход обусловлен исключительно изменением поляризуемости молекулы (при отсутствии дипольного момента у молекулы), то спектр Штарка представляет из себя первую производную от спектра поглощения, что соответствует квадратичному эффекту Штарка. Если же переход обусловлен исключительно изменением дипольного момента молекулы, то спектр Штарка описывается второй производной спектра поглощения, что соответствует линейному эффекту Штарка [3].

На рис. 2 приведены спектры Штарка (1), а также первая производная спектра поглощения НЧ (2), вторая производная спектра поглощения НЧ (3) при рН 8 (рис. 2а) и рН 5 (рис. 2б). Необходимо отметить, что спектр Штарка, полученный для НЧ в кислых растворах, хорошо аппроксимируется второй производной от спектра поглощения НЧ (кривые 1 и 3, рис. 2б), в то время как в щелочных растворах – первой производной (кривые 1 и 2, рис. 2а).

Проанализируем полученные результаты с использованием данных время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии. Кривые затухания флуоресценции НЧ хорошо аппроксимируются суммой трех экспонент. При этом среднее время затухания флуоресценции возрастает при переходе из кислой (1,29 нс) в щелочную среду (4,95 нс). При кислых значениях рН наибольший вклад в кинетику затухания флуоресценции вносит короткоживущая компонента (41,9%). Ионы H^+ , которые присутствуют в кислых растворах в избыточном количестве, являются центрами притяжения неравновесных электронов в наночастицах, увеличивая этим вероятность локализации неравновесных носителей заряда в ловушках и формируя заряженный экситон с коротким временем жизни [4]. И это в свою очередь вызывает формирование в наночастице дипольного момента. Эти результаты хорошо согласуются с данными о проявлении линейного эффекта Штарка для НЧ в водных растворах с низким значением рН.

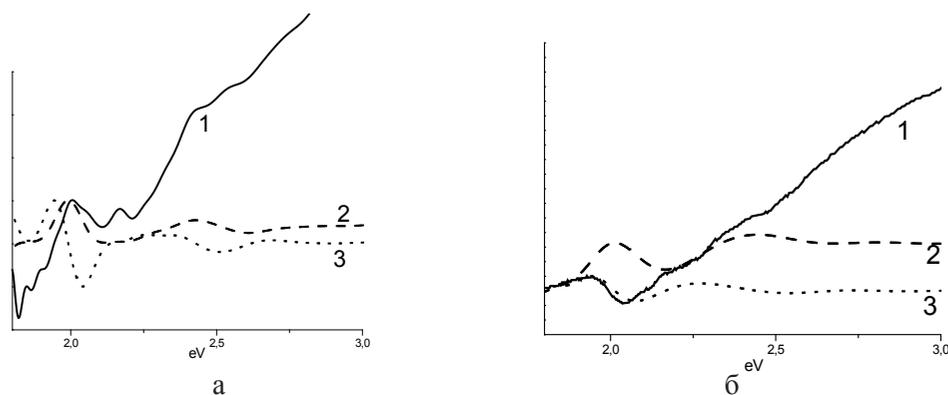


Рисунок 2 – Спектры Штарка (1), полученные путем вычитания спектров поглощения НЧ в хлороформе (без поля) из спектров поглощения НЧ в водных растворах при рН 8 (а) и рН 5 (б) (поле включено), первая производная спектра поглощения НЧ (2), вторая производная спектра поглощения НЧ (3)

При рассмотрении кинетики затухания флуоресценции НЧ в щелочных растворах видно, что наибольший вклад вносит долгоживущая компонента (35,7%). Благодаря наличию электростатических взаимодействий между положительно заряженными группами цистеина, покрывающих наночастицу, и гидроксил анионами у поверхности, число свободных ионов вблизи поверхности НЧ минимально. Вероятность притяжения и захвата электронов ловушками на поверхности минимальна, что создает благоприятные условия для затухания флуоресценции по каналу межзонной рекомбинации с долгоживущей компонентой затухания. Поэтому переходы, происходящие в НЧ в щелочных средах, обусловлены изменением поляризуемости НЧ.

Рассмотрим применение гидрофильных НЧ CdSe/ZnS в качестве красителя в гистологических срезах разного уровня патологии. В тканях без патологии спектральное положение полосы флуоресценции НЧ, локализованных в железах и в стромальном окружении, близки друг к другу: максимум флуоресценции в железах приходится на 587 нм, в строме – 590 нм. Максимум полосы флуоресценции НЧ в железах доброкачественных новообразований приходится на 591 нм, а в стромальном окружении на 581 нм, то есть по сравнению со здоровыми железами наблюдается bathochromic shift полосы флуоресценции в железах на 3–4 нм, в то время как в строме наблюда-

ется гипсохромный сдвиг на 8–9 нм. В раковых железах наблюдается ситуация отличная от доброкачественных новообразований. Максимум полосы флуоресценции НЧ в строме приходится на 586 нм, а в железах на 580 нм.



а (аденома)

б (аденокарцинома)

Рисунок 3 – Спектры Штарка (1), полученные путем вычитания спектров поглощения НЧ в хлороформе (без поля, т.е. в предположении, что ионов вблизи нет) из спектров поглощения НЧ в тканях аденомы (а) и аденокарциномы (б) в предположении, что в патологических тканях электрическое поле включено, то есть отлично от нуля благодаря наличию ионов вблизи поверхности, первая производная спектра флуоресценции НЧ в хлороформе (2), вторая производная спектра флуоресценции НЧ в хлороформе (3)

Проанализируем смещения полос флуоресценции НЧ в тканях разной патологии в рамках модели Штарковской спектроскопии. Будем предполагать, что электрическое поле выключено в неполярном растворителе (хлороформе) ввиду отсутствия ионов у поверхности НЧ. Для катионных НЧ в водной среде и биологических тканях электрическое поле отлично от нуля (включено) ввиду наличия у поверхности ионов. На рис. 3 приведены спектры Штарка (1), полученные путем вычитания спектра флуоресценции НЧ в тканях аденомы (поле включено, а) или аденокарциномы (поле включено, б) из спектра флуоресценции квантовых точек в хлороформе (без поля), первая производная спектра флуоресценции НЧ в хлороформе (2), вторая производная спектра флуоресценции НЧ в хлороформе (3).

Спектр Штарка (кривая 1 рис. 3, а), полученный как разность между спектром испускания НЧ (в клетках аденомы) и спектром испускания НЧ (в хлороформе) хорошо аппроксимируется первой производной от спектра испускания НЧ в хлороформе. В то время как спектр Штарка, полученный вычитанием из спектра НЧ с полем (клетки аденокарциномы) спектра НЧ без поля, хорошо аппроксимируется второй производной от спектра испускания НЧ в хлороформе. Аналогичная ситуация наблюдается и при изменении рН среды в модельных системах (рис. 2) на основании аппроксимации разностных спектров поглощения. Исходя из выше изложенного, можно заключить, что спектральное положение максимума флуоресценции гистологических срезов толстой кишки, окрашенных квантовыми точками, локализованными в железах и строме, чувствительны к ионному состоянию клеток, а именно к изменению локального рН клеток. По аналогии с изменениями в спектрах поглощения водных растворов CdSe/ZnS НЧ при разных значениях рН можно предположить, что в клетках доброкачественных новообразований локальное рН соответствует диапазону щелочных водных растворов, а в клетках злокачественных новообразований – кислых. Неспецифическое взаимодействие патологических клеток с катионными НЧ осуществляется посредством кулоновских взаимодействий.

Данные НЧ были откалиброваны на установке, созданной в ГрГУ имени Янки Купалы [5]. Для этого были приготовлены тонкие пленки на основе поливинилового спирта, в которой случайным образом были распределены гидрофильные НЧ. Данная пленка была заключена между двумя стеклянными пластинками, на внутреннюю сторону которых был нанесен тонкий оптически прозрачный токопроводящий слой оксидов цинка и олова (ITO), через который подается напряжение, создающее внешнее электрическое поле. На рис. 4 приведены спектры поглощения НЧ в отсутствие и при наложении электрического поля.

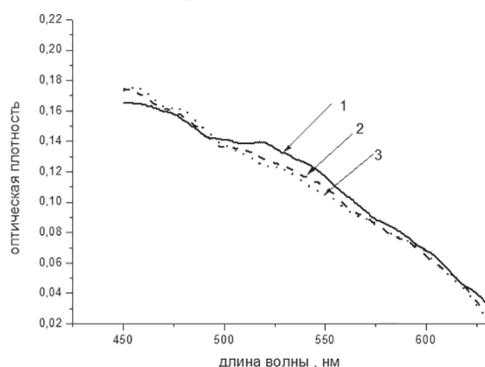


Рисунок 4 – Спектры поглощения гидрофильных квантовых точек CdSe/ZnS в пленках на основе поливинилового спирта при отсутствии внешнего однородного электрического поля (1) и при наложении внешнего однородного электрического напряженностью $2,35^7\text{В/м}$ (2) и $7,06 \cdot 10^7\text{В/м}$ (3)

В заключении необходимо отметить, что гидрофильные НЧ, солюбилизованные по оригинальной методике, очень чувствительны к внешнему однородному электрическому полю. Выполненная калибровка позволит в дальнейшем определить по спектральным изменениям напряженности, возникаемые в тканях разного уровня патологии при развитии карциногенеза.

Работа выполнена при поддержке МО РБ в рамках ГПНИ «Конвергенция» (задание 3.03.12).

ЛИТЕРАТУРА

1. Стрекаль, Н. Д. Штарковская спектроскопия для биологических систем / Н. Д. Стрекаль, С. А. Маскевич // Наука и инновации. – 2013. – № 11 (129). – С. 62–65.
2. Способ модификации поверхности наночастиц CdSe/ZnS: пат. 17735 ВУ, МПК6 C09K11/88, B82B3/00, МПК11 B82Y 15/00. / Н. Д. Стрекаль, С. А. Маскевич; заявитель ГрГУ им. Я. Купалы; заявл. 04.05.2011; опубл. 30.12.2013//Афіцыйны бюл. Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2013. – № 6. – С. 107.
3. *Bublitz, G. U. Stark spectroscopy: applications in chemistry, biology, and materials science / G. U. Bublitz, S. G. Boxer // Ann Rev. – 1997. – No. 48. – P. 213–243*
4. *Javier, A. Nanosecond exciton recombination dynamics in colloidal CdSe quantum dots under ambient conditions / A. Javier, D. Magana, T. Jennings, G. F. Strouse // Appl. Phys. Lett. – 2003. – Vol. 83. – P. 1423.*
5. URL: https://market.grsu.by/faculty_services/ftf/shtarkovskiy-spektrometr.

ЧИСЛЕННАЯ СИМУЛЯЦИЯ ПОТОКОВ ВЯЗКОЙ ЖИДКОСТИ В СРЕДЕ OpenFOAM В УЧЕБНОМ ПРОЦЕССЕ ПРИ ОБУЧЕНИИ МЕДИЦИНСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКЕ

NUMERICAL SIMULATION OF VISCOUS FLUID FLOW IN EDUCATIONAL PROCESS WHEN TEACHING MEDICAL AND BIOLOGICAL PHYSICS USING OPENFOAM

Е. П. Наумюк, А. П. Кравчук, А. А. Самусев
E. Naumiuk, A. Kravchuk, A. Samusev

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь
fizika@grsmu.by
Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Предлагается использовать численное моделирование потоков вязких жидкостей в лабораторном практикуме для студентов медицинских вузов при изучении тем по гидродинамике идеальных и вязких жидкостей, гемодинамике, а также в качестве лекционных демонстраций. Поскольку не всегда возможна постановка физического эксперимента, численная симуляция гидродинамических потоков позволяет наглядно проиллюстрировать различные режимы течения вязких биологических жидкостей для различных параметров сред и для сосудов с различной геометрией. Приводится конкретный пример использования методов вычислительной гидродинамики в специальной свободно распространяемой интегрируемой среде OpenFOAM, описаны все этапы решения задачи и представлены результаты в наглядном графическом виде.

Numerical modeling of viscous fluid flow is proposed to use in a laboratory workshop for students of medical universities when studying topics in hydrodynamics of ideal and viscous fluids, hemodynamics, and also as lecture demonstrations. Since it is not always possible to set up a physical experiment, the numerical simulation of hydrodynamic flow makes it possible to visualize various flow regimes of viscous biological fluids for various parameters of media and for vessels with different geometry. A specific example of use of computational fluid dynamics method with a special free distributed software OpenFOAM is described. All stages of solving the problem are described. The results are presented in a visual graphical form.

Ключевые слова: число Рейнольдса, ламинарное течение, турбулентное течение, математическое моделирование, OpenFOAM.

Keywords: Reynolds number, laminar flow, turbulent flow, mathematical modeling, OpenFOAM.

Решение задач гидродинамики, акустики, физиологии кровообращения требует изучения динамики течения вязких сред. Важная роль в этой области принадлежит эксперименту. Проведение физического и математического моделирования дополняют друг друга. Такой подход позволяет формировать у обучающихся более полное и глубокое представление об изучаемых гидродинамических процессах. В современных методах диагностики сложно обойтись без графических методов моделирования и визуализации динамических процессов. Математическая модель – это приближенное описание какого-либо класса явлений или объектов реального мира на языке математики. Основная цель моделирования – исследовать эти объекты и предсказать результаты будущих наблюдений.