

Исследование диффузии фотодинамического красителя индоцианинового зеленого в коже с помощью спектроскопии обратного рассеяния

Э.А.Генина, А.Н.Башкатов, В.В.Тучин

Одним из направлений развития современной медицины является тераностика, состоящая в одновременном проведении диагностики и лазерной терапии с использованием многофункциональных агентов, в частности флуоресцентного красителя индоцианиновый зеленый, который обладает фотодинамическими и фототермическими свойствами. В работе с помощью спектроскопии обратного рассеяния исследована диффузия в дерме индоцианинового зеленого, растворенного в воде и в водных растворах спиртов (глицерина, пропиленгликоля и этанола). Впервые получены коэффициенты диффузии красителя в дерме при использовании указанных растворителей.

Ключевые слова: индоцианиновый зеленый, дерма, спектроскопия обратного рассеяния, коэффициент диффузии.

1. Введение

Одним из новых направлений современной медицины является разработка тераностических подходов, состоящих в одновременном проведении диагностической визуализации объекта и его фотодинамической и/или фототермической терапии с использованием многофункциональных агентов [1, 2]. Для точной локализации новообразований, скрытых в толще биоткани, используется либо повышение контраста неоднородности, что достигается введением в нее экзогенных красителей или нанокмпозитов с достаточно узкой полосой поглощения в видимом или ближнем ИК спектральном диапазоне [3–5], либо флуоресценция [3, 6]. Для селективного удаления новообразований эти агенты должны в то же время обладать фотодинамическими и/или фототермическими свойствами [5, 7, 8].

В этой связи одним из перспективных красителей для использования в тераностике является индоцианиновый зеленый (ИЗ). В литературе имеются сообщения о применении этого флуоресцентного красителя в диагностических целях при исследованиях функций сердца и печени [9], в ретикулярной и хороидальной ангиографии [10, 11], для визуализации опухолей [3] и оценки глубины термических поражений [12], а также во многих других приложениях. Введенный внутривенно, ИЗ связывается с белками плазмы крови и циркулирует по сосудистой системе. Связывание и спектральные свойства ИЗ дают возмож-

ность развивать новые системы визуализации для хирургических направлений, в частности для пластической и реконструктивной хирургии, нейрохирургии, онкологии и многих других [13–15]. Кроме того, ИЗ обладает ярко выраженными фотодинамическими [16, 17], фототоксическими [18] и фототермическими свойствами [19, 20], позволяющими эффективно применять его в лазерной терапии и хирургии.

Индоцианиновый зеленый (4,5-бензоиндотрикарбоцианин) представляет собой нетоксичный трикарбоцианиновый краситель. Молекулярная формула ИЗ – $[C_{43}H_{47}N_2O_6S_2]^{2-} \cdot 2Na^+$, молекулярная масса – 775. Краситель является водорастворимым анионным фотосенсибилизатором [16]. По литературным данным растворимость ИЗ в дистиллированной воде составляет не более 5 мг/мл [21]. Растворимость ИЗ в физиологическом растворе намного ниже по сравнению с растворимостью в воде, что является причиной агрегации красителя и выпадения осадка при концентрациях от 0.01 до 1 мг/мл [22]. Спирты, наоборот, значительно увеличивают растворимость ИЗ. Как показано в работе [22], если соотношение воды и спиртов не ниже 1:1, определяющим фактором является влияние спиртов. При повышении концентрации воды в смеси происходит резкое увеличение степени агрегации молекул красителя [23]. ИЗ обладает аффинностью к белкам крови (прежде всего к альбумину [13]) и биотканей [23, 24].

ИЗ имеет сильные полосы поглощения в красной и ближней ИК областях спектра (700–800 нм). В этом диапазоне наблюдаются две полосы поглощения: коротковолновая расположена в красной или в ближней ИК области спектра (690–730 нм), а длинноволновая (770–790 нм) – в ближней ИК области. При этом длинноволновая полоса соответствует поглощению мономера, а коротковолновая – димера красителя. В водных растворах красителя димеризация наблюдается уже при концентрациях 10^{-7} моль/см³ [14].

При взаимодействии с биотканью максимумы полосы поглощения мономеров ИЗ смещаются в длинноволновую область спектра [11, 23, 24].

При высоких концентрациях зависимость эффективности поглощения света красителем от его концентрации нелинейная, т. к. в этом случае краситель имеет тенденцию

Э.А.Генина, А.Н.Башкатов. Научно-образовательный институт оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: eagenina@yandex.ru, a.n.bashkatov@mail.ru
В.В.Тучин. Научно-образовательный институт оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая, 24; University of Oulu, P.O. Box 4500, Oulu FIN-90014, Finland; e-mail: tuchinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 10 апреля 2014 г., после доработки – 17 мая 2014 г.

к агрегации в крупные частицы в воде и водно-солевых растворах NaCl. Так называемые J-агрегаты представляют собой нитеобразные соединения мономеров молекул. Полоса поглощения J-агрегатов ИЗ в воде находится в области 890 нм [25, 26]. Интенсивность, положение полос поглощения и их взаимное соотношение зависят от используемых растворителей [27].

С точки зрения улучшения взаимодействия между оптическим излучением и красителем, сенсибилизирующим биоткань, перспективным направлением может оказаться одновременное окрашивание исследуемой биоткани и снижение ее светорассеяния (поскольку это обеспечит большую глубину проникновения излучения), что может быть достигнуто при использовании растворов красителей в иммерсионных агентах.

Однако, несмотря на многочисленность публикаций о применении ИЗ, исследований скорости диффузии этого красителя в биотканях практически не проводилось, особенности его взаимодействия с биотканями остаются недостаточно изученными, главным образом при использовании в качестве растворителей гипертонических иммерсионных жидкостей. Применение спиртовых растворов в качестве усилителей диффузии ИЗ также требует более детального изучения.

Целью настоящей работы является исследование взаимодействия ИЗ с кожей в процессе его диффузии при использовании водных растворов красителя, а также растворов ИЗ в этиловом спирте, пропиленгликоле и глицерине, и определение коэффициента диффузии ИЗ в коже.

2. Материалы и методы

Для исследований использовался ИЗ (Aldrich Chemical Co., США) в следующих растворителях: дистиллированная вода, 50%-ный водный раствор этилового спирта, 50%-ный водный раствор глицерина (ЗАО «База №1 химреактивов», Россия), 50%-ный водный раствор пропиленгликоля (ОАО «Реактив», Россия). Концентрация ИЗ во всех растворах составляла 1 мг/мл, что соответствует концентрации данного красителя, часто используемой как в диагностических [28], так и в терапевтических целях [29, 30].

Для измерения коэффициентов поглощения исследуемых растворов использовался двухлучевой спектрофотометр CARY-2415 (Varian, Австралия) с интегрирующей сферой в режиме полного пропускания в спектральном диапазоне 400–1000 нм. Внутренний диаметр сферы составлял 100 мм, размер входного отверстия – 20×20 мм, диаметр выходного отверстия – 16 мм. Источником излучения служила галогеновая лампа с фильтрацией излучения в исследуемом спектральном диапазоне. Диаметр светового пучка, падающего на кювету с раствором, равнялся 3 мм, толщина кюветы составляла 30 мкм. Измерения проводились относительно соответствующих растворителей, кювета с которыми помещалась в канал сравнения. Все эксперименты выполнялись при комнатной температуре (~20 °C).

Материалом для исследования диффузии растворов ИЗ в биоткани послужили образцы кожи белых аутбредных лабораторных крыс, полученные посредством аутопсии. Перед проведением эксперимента подкожный жировой слой и шерсть тщательно удалялись. Толщина образцов составляла от 0.6 до 1 мм.

Измерения коэффициента отражения проводились с помощью оптического многоканального анализатора

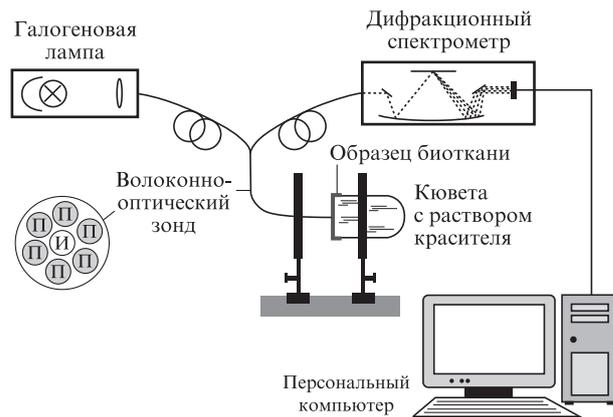


Рис.1. Схема экспериментальной установки (П – волокно, принимающее излучение, И – излучающее волокно).

LESA-5 («Биоспек», Россия). На отверстие цилиндрической кюветы, предварительно заполненной исследуемым раствором, прикреплялся образец кожи эпидермисом наружу. Кювета закреплялась в штативе горизонтально, так, чтобы раствор соприкасался с поверхностью образца. Волоконно-оптический зонд (ВОЗ) прибора в свою очередь закреплялся на противоположной поверхности исследуемого образца, как показано на рис.1. ВОЗ состоял из семи волокон, центрального излучающего и шести приемных, симметрично расположенных по окружности вокруг центрального волокна, – для сбора излучения, рассеянного образцом биоткани в обратном направлении. Диаметр каждого волокна был равен 200 мкм, расстояние между центрами излучающего и приемных волокон составляло 280 мкм. Источником излучения в спектральном диапазоне от 450 до 1000 нм служила галогеновая лампа. Время накопления сигнала составляло 100 мс.

Образец закреплялся таким образом, чтобы проникновение красителя происходило со стороны дермы, а регистрация спектров обратного рассеяния осуществлялась со стороны эпидермиса. Во избежание дегидратации образца кожи в процессе эксперимента, он покрывался с внешней стороны парафиновой пленкой Parafilm M (American National Con., США) за исключением участка, контактирующего с волоконно-оптическим зондом.

Измерение коэффициента обратного рассеяния (отражения) кожи производилось в течение 2–8 часов до прекращения изменений в спектрах отражения. По измеренным спектрам отражения рассчитывались спектры эффективной оптической плотности (ЭОП) $A(\lambda)$ с помощью соотношения [31]

$$A(\lambda) = -\ln[R(\lambda)], \quad (1)$$

где $R(\lambda)$ – зависящий от времени экспериментально измеренный коэффициент отражения; λ – длина волны (в нм). Величина $A(\lambda)$ широко используется в оптике биотканей при исследованиях диффузного отражения кожи *in vivo* [31–35].

Для количественной оценки изменения содержания красителя в биоткани и определения коэффициента диффузии был применен метод [31, 36], основанный на использовании модифицированного закона Бугера–Ламберта–Бера. Согласно данному методу ЭОП биоткани

$$A = \mu_a \sigma \rho + G, \quad (2)$$

где μ_a – коэффициент поглощения (в см^{-1}); ρ – расстояние между источником и детектором обратнорассеянного излучения (в см); σ – дифференцированный фактор длины пути фотона, учитывающий удлинение траектории регистрируемых фотонов, обусловленное многократным рассеянием; G – константа, определяемая геометрией среды и эксперимента.

С учетом уравнения (2) ЭОП образца кожи, измеренная в различные моменты времени при проникновении красителя в биоткань, определялась следующим образом [37, 38]:

$$A(t, \lambda) = A(t=0, \lambda) + \Delta\mu_a(t, \lambda)\rho\sigma, \quad (3)$$

где t – время (в с); $\Delta\mu_a(t, \lambda) = \alpha(\lambda)C(t)$ разность коэффициентов поглощения биоткани в каждый момент времени и в начальный момент времени, фактически определяющая коэффициент поглощения красителя внутри биоткани (в см^{-1}); $\alpha(\lambda)$ – молярный коэффициент поглощения красителя ($\text{см}^2/\text{моль}$); $C(t)$ – молярная концентрация красителя в биоткани ($\text{моль}/\text{см}^3$); $A(t=0, \lambda)$ – ЭОП образца, измеренная в начальный момент времени до его окрашивания.

Коэффициент диффузии D определялся путем минимизации целевого функционала:

$$f(D) = \sum_{i=1}^{N_t} [\Delta A(D, t_i) - \Delta A^*(t_i)]^2, \quad (4)$$

где N_t – общее количество экспериментальных точек, полученное при регистрации динамики коэффициента отражения на некоторой фиксированной длине волны; $\Delta A(D, t)$ – ЭОП, рассчитанная в момент времени t при заданном значении D ; $\Delta A^*(t)$ – экспериментально измеренное значение ЭОП в момент времени t . Более подробно данный метод описан в работах [37, 38].

3. Результаты и их обсуждение

На рис.2,а представлены спектры поглощения ИЗ, измеренные в различных растворителях. Наибольшим коэффициентом поглощения (1142 см^{-1}) в исследуемом диапазоне длин волн обладает раствор ИЗ в 50%-ном пропиленгликоле. Наименьший коэффициент поглощения (252 см^{-1}) при той же концентрации красителя наблюдается в водном растворе ИЗ. На рис.2,б демонстрируются спектры поглощения ИЗ, нормированного на максимальное значение коэффициента поглощения ИЗ в исследуемых растворах (μ_a^{norm}). Хорошо видно, что при равных концентрациях ИЗ во всех растворах в водном растворе преобладают димеры, о чем свидетельствует увеличение μ_a^{norm} на длине волны 697 нм по сравнению с длиной волны 769 нм. В спектрах поглощения спиртовых растворов ИЗ (глицерина, пропиленгликоля и этанола) наблюдается рост μ_a^{norm} в области 788 нм и снижение в области 724 нм, что говорит о преобладании в растворах мономеров красителя. Оба максимума поглощения смещены в ИК область спектра.

Известно, что положение полос поглощения и соотношение их амплитуд, определяемое присутствием в рас-

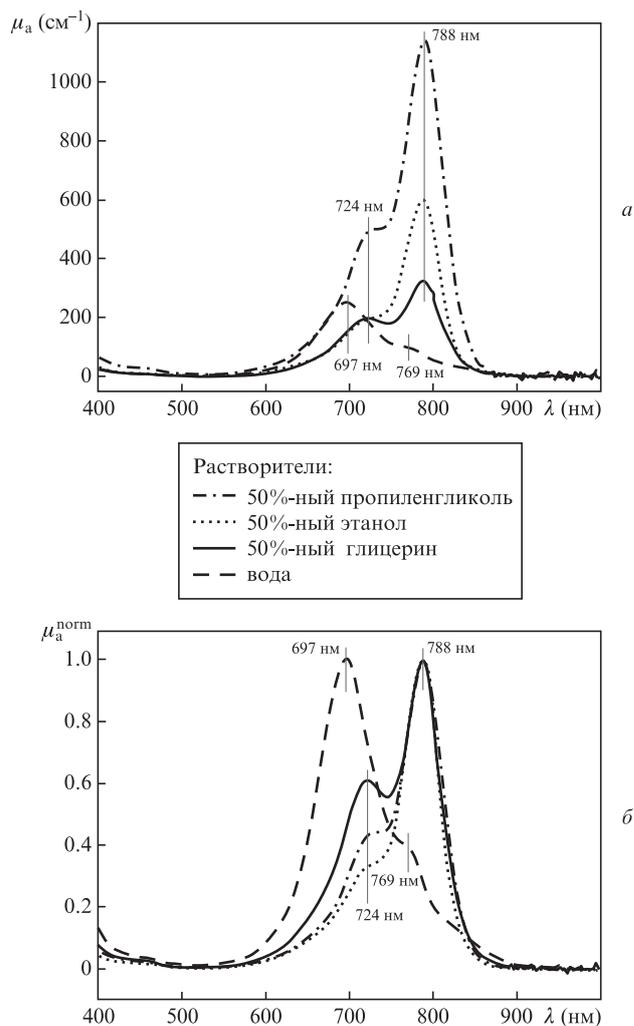


Рис.2. Спектры коэффициента поглощения (а) и нормированного коэффициента поглощения (б) растворов индоцианинового зеленого в различных растворителях. Концентрация ИЗ во всех растворах составляет 1 мг/мл.

творе мономеров и димеров красителя, зависят от природы растворителя. Различия в спектрах характеризуют эффективность гетерогенной ассоциации молекул ИЗ в различных растворителях. Из рис.2 следует, что эта эффективность наибольшая в случае, когда растворителем является вода, затем в порядке убывания идут глицерин, пропиленгликоль и этанол.

Причинами данного эффекта считаются, во-первых, различия в значениях константы относительной диэлектрической проницаемости ϵ для разных растворителей [39]. Как правило, молекулы красителей существуют в растворах в форме заряженных ионов, вследствие чего относительная диэлектрическая проницаемость растворителя оказывает большое влияние на процессы ассоциации. Для исследуемых растворителей при температуре 20°C ϵ принимает следующие значения: 80.4 (вода) [40], 56.2 (глицерин) [40], 32 (пропиленгликоль) [41], 27.8 (этанол) [40]. С уменьшением ϵ эффективность гетерогенной ассоциации красителей снижается. Кроме того, молекулы разных растворителей по-разному ориентируются вокруг молекулы красителя, что приводит к образованию различных сольватных оболочек, оказывающих влияние как на поглощающие свойства красителя, так и на эффективность его димеризации. И наконец, спектральные характери-

ки красителя в различных растворителях могут изменяться при взаимодействии молекул, в результате которого между ними формируются водородные связи [39].

Увеличение коэффициента поглощения в коротковолновой области видимого диапазона соответствует краю невысокого пика вблизи 400 нм, наблюдаемого в спектрах как мономерных, так и димерных форм ИЗ. Для растворов мономеров красителя характерен более высокий пик вблизи 200 нм, в то время как для димеров такой пик отсутствует [42]. В диапазоне длин волн выше 890 нм коэффициент поглощения растворов близок к нулю, что свидетельствует об отсутствии агрегации молекул ИЗ во всех исследуемых растворах.

На рис.3 представлена выборочная последовательность спектров ЭОП кожи при ее взаимодействии с исследуемыми растворами ИЗ. Время исследования определялось окончанием изменения формы спектра и уровня сигнала.

На рис.3,а представлена зависимость ЭОП кожи в различные моменты времени в процессе взаимодействия образца с водным раствором ИЗ. Хорошо видно, что в начальный момент времени (0.5 мин) пиков поглощения ИЗ на фоне спектра $A(\lambda)$ кожи не наблюдается. Искажение формы спектра ЭОП кожи связано с повышением концентрации в ней красителя за счет диффузии. В течение первых 120 мин взаимодействия раствора красителя с кожей основное влияние на форму спектра оказывала мономерная составляющая раствора ИЗ: значение A на длине

волны 790 нм было выше, чем на длине волны 680 нм. С течением времени доминирующим становился пик на длине волны 680 нм, что соответствовало, по-видимому, возрастанию концентрации красителя в биоткани и его димеризации. Возможно, связывание молекул ИЗ с коллагеном и эластином дермы способствовало повышению эффективности димеризации. Подобное явление наблюдалось при взаимодействии солевых растворов красителей метиленового синего и толуидинового синего с мембранами клеток [38, 43]. Увеличение ЭОП в коротковолновой области спектра также связано с влиянием ИЗ.

По сравнению со спектром водного раствора ИЗ (см. рис.2) максимум, соответствующий димерной форме красителя, сместился в коротковолновую область спектра на 17 нм, второй пик – на 21 нм в длинноволновую область. Понижение пика, обусловленного мономерной формой красителя (гипохромный эффект), и смещение пика, связанного с димерной формой красителя, в коротковолновую область спектра (гипсохромный эффект) характерны не только для взаимодействия водного раствора ИЗ с фиброзной тканью дермы, но и для взаимодействия водных и солевых растворов других красителей (например, метиленового синего и толуидинового синего) с клеточной биотканью (слизистая оболочка) [38] и колониями бактерий [43].

Изменение положения пиков, соответствующих поглощению ИЗ, в спектре ЭОП кожи по сравнению с их поло-

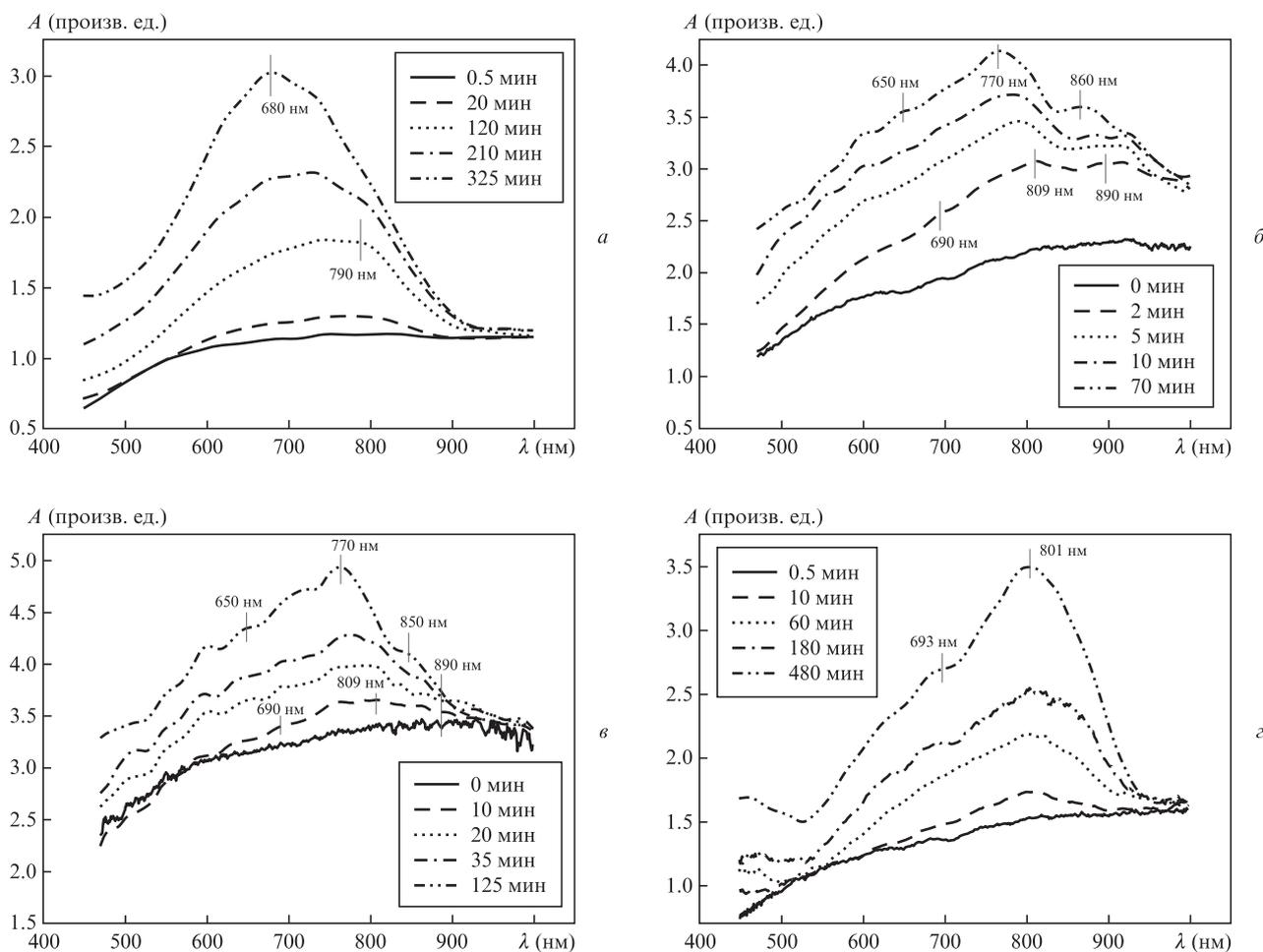


Рис.3. Изменение спектра эффективной оптической плотности кожи при ее взаимодействии с раствором ИЗ в воде (а), в 50%-ном водном растворе глицерина (б), в 50%-ном водном растворе пропиленгликоля (в) и в 50%-ном водном растворе этанола (г).

жением в спектре поглощения раствора, наблюдавшееся во всех рассматриваемых случаях, обусловлено взаимодействием красителя с протеинами дермы [23].

На рис.3,б представлена спектральная зависимость ЭОП кожи в различные моменты времени при взаимодействии образца со стороны дермы с раствором ИЗ в 50%-ном водном растворе глицерина. Через 2 мин после начала взаимодействия в спектре $A(\lambda)$ кожи отчетливо наблюдались три полосы, возникшие в результате поглощения ИЗ на длинах волн 690, 809 и 890 нм. Эти полосы соответствуют поглощению димеров, мономеров и J-агрегатов красителя соответственно. По сравнению со спектрами поглощения ИЗ в 50%-ном растворе глицерина максимум поглощения димеров в дерме смещен в коротковолновую область на 34 нм, мономеров – в длинноволновую область на 22 нм, и появился пик, соответствующий J-агрегатам молекул, отсутствовавшим в растворе. Увеличение ЭОП и изменение формы спектра в коротковолновой (450–500 нм) области, наблюдаемые в процессе диффузии ИЗ, связано с полосой поглощения красителя вблизи 400 нм.

Необходимо отметить, что в процессе диффузии происходило смещение максимумов полос поглощения в коротковолновую область спектра. Через 70 мин после начала взаимодействия максимум поглощения димеров находился на длине волны 650 нм, мономеров – на 770 нм, J-агрегатов – на 860 нм.

Поскольку используемый растворитель являлся гипертоническим иммерсионным агентом с показателем преломления $n_{\text{glyc}} = 1.4$ (на длине волны 589 нм), то он замещал внутритканевую жидкость, вследствие чего происходило выравнивание показателей преломления коллагеновых волокон дермы и окружающего матрикса, результатом которого стало увеличение прозрачности биоткани. Снижение светорассеяния позволило наблюдать появление двух полос поглощения крови в диапазоне 500–600 нм уже через 10 мин после начала взаимодействия исследуемого раствора с образцом.

Таким образом, полученные спектры являются результатом повышающегося поглощения и снижающегося рассеяния биоткани.

На рис.3,в представлена спектральная зависимость ЭОП кожи в различные моменты времени при взаимодействии образца с раствором ИЗ в 50%-ном водном растворе пропиленгликоля. Динамика изменения положения пиков поглощения мономерных, димерных и полимерных форм красителя аналогична динамике, наблюдаемой для раствора ИЗ в глицерине, за исключением того, что пик, соответствующий J-агрегатам красителя, менее выражен. Как и в случае использования в качестве растворителя 50%-ного раствора глицерина в воде, преобладающим являлся пик, соответствующий мономерной форме красителя. В процессе диффузии ИЗ также наблюдалось смещение максимумов ЭОП всех типов молекул красителя на ~40 нм в коротковолновую область спектра. В результате снижения рассеяния за счет диффузии пропиленгликоля в ткань дермы ($n_{\text{prop}} = 1.38$ на длине волны 589 нм) через 20 мин после начала взаимодействия исследуемого раствора с дермой в области 500–600 нм становились заметными полосы поглощения крови.

Причины, вызывающие постепенное смещение в коротковолновую область наблюдаемых полос поглощения ИЗ, растворенного в водных растворах глицерина

и пропиленгликоля, по-видимому, связаны с процессом оптического просветления кожи. В данной геометрии эксперимента наблюдение велось со стороны, противоположной поверхности, через которую происходила диффузия исследуемых растворов, поэтому изначально наблюдаемые спектры искажались в результате рассеяния кожи. Постепенное снижение рассеяния, сопровождающее диффузию красителя, вызывало, соответственно, уменьшение искажений.

Таким образом, при использовании в качестве растворителей глицерина и пропиленгликоля максимум поглощения ИЗ в дерме в процессе диффузии все дальше смещается от длины волны излучения диодных лазеров (805 и 808 нм), которые используются для селективного термоллиза [8, 29, 44], сваривания биотканей [19, 45] или фотодинамического воздействия [8, 16, 17, 29, 30], что необходимо учитывать для повышения эффективности процедур.

На рис.3,г представлены спектральные зависимости ЭОП кожи в различные моменты времени при взаимодействии образца с раствором ИЗ в 50%-ном водном растворе этанола. Максимальное значение ЭОП мономеров ИЗ в коже имело место на $\lambda = 801$ нм (сдвиг на 14 нм в длинноволновую область спектра), димеров – на $\lambda = 693$ нм (31 нм в сторону коротких волн). В отличие от зависимостей, представленных на рис.3,б и в, изменения положения максимумов в спектре ЭОП в процессе диффузии ИЗ не происходило, заметной агрегации молекул красителя не наблюдалось. Более выраженным являлся подъем спектральной кривой в области 450 нм. Превалирующей во все время наблюдения, как и в случае остальных спиртовых растворов, оставалась мономерная форма ИЗ. Поскольку оптического просветления биоткани при использовании в качестве растворителя раствора этанола не происходило (показатель преломления раствора этанола $n_{\text{eth}} = 1.345$ на длине волны 589 нм близок к показателю преломления внутритканевой жидкости $n_{\text{liq}} = 1.35$ [46]), полосы поглощения крови в области спектра 500–600 нм не визуализировались и искажения формы спектра не наблюдались.

Значения коэффициентов диффузии ИЗ в дерме при использовании различных растворителей представлены в табл.1. Поскольку ЭОП определяется из экспериментально измеренного коэффициента обратного рассеяния кожи, то данный параметр зависит от структурно-морфологических особенностей каждого исследуемого образца. Вариации таких особенностей, в частности пористости биоткани, вносят погрешность и в определение скоростных характеристик диффузии красителя в биоткани. Вариативность оптических параметров образцов кожи составляет не менее 10% [47] и, таким образом, вносит наиболь-

Табл.1. Коэффициенты диффузии растворов индоцианинового зеленого в дерме.

Растворитель	Средняя толщина образцов (мм)	Коэффициент диффузии (см ² /с)
Вода	0.93±0.07	(7.7±2.51)×10 ⁻⁷
50%-ный водный раствор глицерина	0.66±0.04	(1.0±0.3)×10 ⁻⁸
50%-ный водный раствор пропиленгликоля	0.71±0.01	(4.0±0.2)×10 ⁻⁸
50%-ный водный раствор этанола	0.80±0.01	(1.88±0.3)×10 ⁻⁶

шую погрешность в определение эффективной оптической плотности, а следовательно, и коэффициента диффузии красителя в биоткани. В литературе данные о коэффициентах диффузии красителей, в том числе ИЗ, в биотканях практически отсутствуют. Типичные значения коэффициентов диффузии красителей в растворах находятся в диапазоне 10^{-5} – 10^{-6} см²/с [48, 49]. Из табл.1 видно, что при добавлении спирта коэффициент диффузии красителя почти в 2.5 раза больше, чем для водного раствора ИЗ. Это связано со способностью спирта увеличивать проницаемость биотканей для красителей и других веществ [37, 50, 51]. Наименьшее значение коэффициента диффузии наблюдалось в случае, когда растворителем служил 50%-ный водный раствор глицерина. Близкое значение коэффициента диффузии было получено и при использовании в качестве растворителя пропиленгликоля. Возможно, замедление диффузии в обоих случаях связано с тем, что данные растворители как гипертонические вещества вызывали дегидратацию биоткани, что приводило к уплотнению коллагеновой матрицы дермы. Образование J-агрегатов ИЗ в дерме, по-видимому, также связано с затрудненной диффузией красителя.

4. Заключение

С помощью спектроскопии обратного рассеяния в работе исследована диффузия в дерме фотодинамического красителя индоцианинового зеленого, растворенного в воде и водных растворах спиртов. В процессе диффузии обнаружено значительное (до 40 нм) смещение в коротковолновую область спектра максимума поглощения ИЗ в дерме и образование агрегированной формы красителя при использовании в качестве растворителей 50%-ных водных растворов глицерина и пропиленгликоля. При диффузии ИЗ, растворенного в этаноле, подобного смещения и агрегации не наблюдалось.

Получены значения коэффициента диффузии красителя в дерме. Использование в качестве растворителя 50%-ного водного раствора этилового спирта почти в 2.5 раза увеличивает коэффициент диффузии красителя по сравнению с таковым для водного раствора. Использование в качестве растворителей глицерина и пропиленгликоля, напротив, замедляет диффузию красителя.

Результаты работы могут быть использованы для развития методов оптической и оптоакустической томографии кожи, а также фототермической и фотодинамической терапии, для сваривания биотканей и других приложений лазерной хирургии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ государственной поддержки ведущих научных школ РФ №НШ-703.2014.2.

Авторы благодарят В.И.Кочубея и Е.К.Волкову за помощь в проведении измерений спектров пропускания растворов.

1. Lammers T., Aime S., Hennink W.E., Storm G., Kiessling F. *Acc. Chem. Res.*, **44**, 1029 (2011).
2. Khlebtsov N., Bogatyrev V., Dykman L., Khlebtsov B., Staroverov S., Shirokov A., Matora L., Khanadeev V., Pylaev T., Tsyganova N., Terentyuk G. *Theranostics*, **3**, 167 (2013).
3. Davis S.C., Pogue B.W., Dehghani H., Paulsen K.D. *Appl. Opt.*, **48**, D262 (2009).
4. Генина Э.А., Федосов И.В., Башкатов А.Н., Зимняков Д.А., Альтшулер Г.Б., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **38**, 263 (2008).

5. Tong L., Wei Q., Wei A., Cheng J.-X. *Photochem. Photobiol.*, **85**, 21 (2009).
6. Hama H., Kurokawa H., Kawano H., Ando R., Shimogori T., Noda H., Fukami K., Sakaue-Sawano A., Miyawaki A. *Nature Neuroscience, Tech. Report*, **14**, 1 (2011).
7. Kessentini S., Barchiesi D. *Biomed. Opt. Express*, **3**, 590 (2012).
8. Yanina I.Yu., Tuchin V.V., Navolokin N.A., Matveeva O.V., Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Altshuler G.B. *J. Biomed. Opt.*, **17**, 058002 (2012).
9. Green F.J. *The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators* (Milwaukee: Aldrich Chem. Comp., Inc., 1990).
10. Axer-Siegel R., Lichter H., Rosenblatt I., Priel E., Yassar Y., Weinberger D. *Am. J. Ophthalmology*, **128**, 331 (1999).
11. Ciamberlini C., Guarnieri V., Longobardi G., Poggi P., Donati M.C., Panzardi G. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 218 (1997).
12. Green H.A., Bua D., Anderson R.R., Nishioka N.S. *Arch. Dermatol.*, **128**, 43 (1992).
13. Alacam B., Yazici B., Intes X., Chance B. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **53**, 1861 (2006).
14. Philip R., Penzkofer A., Baumler W., Szeimies R.M., Abels C. *J. Photochem. Photobiol. A*, **96**, 137 (1996).
15. Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A., Patila T., Spillmann T., Tuchin V.V., Venermo M., Valisuo P. *Intern. J. Biomed. Imaging*, **2012**, 940585 (2012).
16. Mamoon A.-M., Gamal-Eldeen A.M., Ruppel M.E., Smith R.J., Tsang T., Miller L.M. *Photodiag. Photodyn. Ther.*, **6**, 105 (2009).
17. Krespi Y.P., Kizhner V. *Lasers Surg. Med.*, **43**, 187 (2011).
18. Тучина Е.С., Тучин В.В., Хлебцов Б.Н., Хлебцов Н.Г. *Квантовая электроника*, **41**, 354 (2011).
19. Rossi F., Matteini P., Ratto F., Menabuoni L., Lenzetti I., Pini R. *J. Biophoton.*, **1**, 331 (2008).
20. Babilas P., Shafirstein G., Baier J., Schacht V., Szeimies R.-M., Landthaler M., Baumler W., Abels C. *Lasers Surg. Med.*, **39**, 341 (2007).
21. Alam A., Chavan A.J., Flower R.W. <https://www.google.com/patents/US6944493> (05.05.2014).
22. Кулябина Т.В. *Канд. дис.* (Саратов, 2007).
23. Кочубей В.И., Кулябина Т.В., Тучин В.В., Альтшуллер Г.Б. *Оптика и спектроскопия*, **99**, 582 (2005).
24. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Кочубей В.И., Тучин В.В., Альтшуллер Г.Б. *Письма в ЖТФ*, **27**, 63 (2001).
25. Rotermund F., Weigand R., Penzkofer A. *Chem. Phys.*, **220**, 385 (1997).
26. Mauerer M., Penzkofer A., Zweck J. *J. Photochem. Photobiol. B*, **47**, 68 (1998).
27. Genina E.A., Bashkatov A.N., Sinichkin Yu.P., Kochubey V.I., Lakodina N.A., Altshuler G.B., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **7**, 471 (2002).
28. http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/i2633pis.pdf (05.05.2014).
29. Tuchin V.V., Genina E.A., Bashkatov A.N., Simonenko G.V., Odoevskaya O.D., Altshuler G.B. *Lasers Surg. Med.*, **33**, 296 (2003).
30. Genina E.A., Bashkatov A.N., Simonenko G.V., Odoevskaya O.D., Tuchin V.V., Altshuler G.B. *J. Biomed. Opt.*, **9**, 828 (2004).
31. Mourant J.R., Johnson T.M., Los G., Bigio I.J. *Phys. Med. Biol.*, **44**, 1397 (1999).
32. Austwick M.R., Woodhams J.H., Chalau V., Mosse C.A., Eliot C., Lovat L., MacRobert A.J., Bigio I.J., Bown S.J. *J. Innovative Opt. Health Sci.*, **4**, 97 (2011).
33. Lucassen G.W., van Veen G.N.A., Jansen J.A.J. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 267 (1998).
34. Merzlyak M.N., Naqvi K.R. *J. Photochem. Photobiol. B*, **58**, 123 (2000).
35. Takiwaki H., Miyaoka Y., Arase S. *Skin Res. Technol.*, **10**, 130 (2004).
36. Zourabian A., Siegel A., Chance B., Ramanujan N., Rode M., Boas D.A. *J. Biomed. Opt.*, **5**, 391 (2000).
37. Genina E.A., Kuzmina M.Yu., Pankov S.S., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6535**, 65351H (2007).
38. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Чикина Е.Э., Тучин В.В. *Биофизика*, **52**, 1104 (2007).
39. Левшин Л.В., Салецкий А.М. *Теоретическая и экспериментальная химия*, **26**, 669 (1990).

40. *Краткий справочник химика*. Под ред. В.И.Перельмана (М.–Л.: Изд. Химия, 1964).
41. *Glycols*. Ed. by G.O.Gurme, F.Johnston (New York: Reinhold Publ. Corp., 1953).
42. Prahl S. <http://omlc.ogi.edu/spectra/icg/index.html> (01.03.2014).
43. Usacheva M.N., Teichert M.C., Biel M.A. *Lasers Surg. Med.*, **29**, 165 (2001).
44. Chen W.R., Adams R.L., Higgins A.K., Bartels K.E., Nordquist R.E. *Cancer Lett.*, **98**, 169 (1996).
45. Athiraman H., Wolf R.F., Bartels K.E., Shivakoti S., Liu H., Chen W.R. *J. X-Ray Sci. Technol.*, **12**, 117 (2004).
46. Tuchin V.V. *Optical Clearing of Tissues and Blood* (Bellingham: SPIE Press, PM154, 2006).
47. Тучин В.В. *Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике* (М.: Физматлит, 2012).
48. *Физические величины: справочник*. Под ред. И.С.Григорьева, Е.З.Мейлихова (М.: Энергоатомиздат, 1991).
49. Котык А., Яначек К. *Мембранный транспорт* (М.: Мир, 1980).
50. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *Med. Laser Applicat.*, **23**, 31 (2008).
51. Mao Z., Zhu D., Hu Y., Wen X., Han Z. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021104 (2008).