

07;12

In vivo исследование взаимодействия индоцианина зеленого с эпидермисом человека

© Генина Э.А., Башкатов А.Н., Кочубей В.И.,
Тучин В.В., Альтшулер Г.Б.

Саратовский государственный университет

E-mail: eagenina@optics.sgu.ru

С.-Петербургский институт точной механики и оптики, Лазерный центр

Поступило в Редакцию 5 декабря 2000 г.

Экспериментально определена величина смещения длины волны максимума поглощения индоцианина зеленого при окраске рогового слоя эпидермиса человека *in vivo*. Установлено, что на поверхности кожи находился как свободный, так и связанный краситель, а на глубине $\sim 0.5 \mu\text{m}$ — только связанный.

Индоцианин зеленый в качестве биологического красителя широко применяется в различных областях медицины благодаря сильному поглощению в ближней ИК области спектра, низкой токсичности и быстрому выводу из организма. В течение многих лет он применялся только в диагностике [1–6]. В последнее десятилетие его применение расширилось и в область фототерапии опухолей [7–11], фотокоагуляции [12] и сваривания тканей [13], лечения заболеваний кожи и волосяных фолликулов [14], что объясняется его значительным поглощением на длине волны мощных диодных лазеров.

Индоцианин зеленый представляет собой трикарбоцианиновый краситель с ярко выраженным пиком поглощения в ближней ИК области спектра ($\sim 790 \text{ nm}$). В видимой области он практически не имеет поглощения. Его химическая формула — $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$, молекулярный вес — 775. Узкий пик поглощения позволил использовать этот краситель для селективного лазерного термоанализа, однако при взаимодействии с биотканью спектр индоцианина зеленого изменяется.

В ряде работ исследовался вопрос взаимодействия индоцианина зеленого с клеточными белками. В результате связывания молекул индоцианина зеленого с органическими молекулами биологических тканей

его пик поглощения смещается в длинноволновую область. Максимум поглощения красителя приходится на 805 nm для крови [15] и кожи человека *in vivo* [16], и на 810 nm для клеточных культур эпидермиса [17]. Отметим, что в работе [16] отраженный от кожи сигнал формировался в основном за счет сравнительно глубоких слоев ткани, где кровоснабжение велико. Этим объясняется одинаковое положение пиков поглощения индоцианина зеленого в крови и в коже. Уточнение длины волны, соответствующей пику поглощения индоцианина зеленого, при его взаимодействии с кожей человека *in vivo* имеет большое значение для применения в селективном лазерном термоллизе при выборе длины волны облучающего лазера.

Целью данной работы являлось определение сдвига максимума поглощения растворов индоцианина зеленого, применяющихся в лазерном термоллизе, при их взаимодействии с роговым слоем эпидермиса человека *in vivo*.

В данной работе было проведено исследование тонких отрывов кожи, окрашенной растворами индоцианина зеленого. Эти отрывы были сделаны с помощью клейкой ленты (Multi-Film, Tesa, Beiersdorf, Hamburg) с одного и того же места — внутренней стороны предплечья. Полученные кожные отрывы наклеивались на предметные стекла. Спектры полного пропускания образцов регистрировались с помощью стандартного спектрофотометра CARY-2415 с интегрирующей сферой в диапазоне длин волн от 350 до 1200 nm. Растворы были приготовлены на базе глицерина и этилового спирта. Различие между ними заключалось в том, что в состав первого раствора входил ДМСО (диметилсульфоксид), а содержание спирта во втором растворе было выше, чем в первом.

На рис. 1 и 2 представлены оптические плотности трех последовательных кожных отрывов, окрашенных растворами индоцианина зеленого. Толщина отрывов составляла приблизительно 3–5 μm . На рисунках видно смещение пиков поглощения индоцианина зеленого в коже в длинноволновую область спектра по сравнению с пиком поглощения соответствующего раствора, спектр которого, уменьшенный в пять раз, также дается на каждом из рисунков. Наличие сдвига означает, что молекулы индоцианина зеленого находятся в роговом слое эпидермиса в связанном состоянии.

При использовании первого раствора (рис. 1) величина смещения составила 11 nm. В этом эксперименте раствор тщательно смывался с поверхности кожи перед тем, как были сделаны отрывы. Совпадение пиков

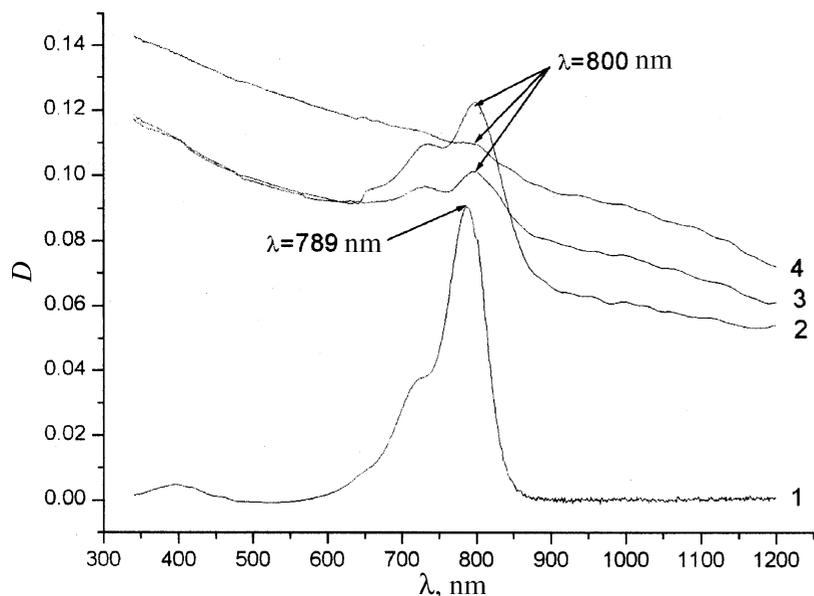


Рис. 1. Спектры оптической плотности (D) спиртово-глицеринового раствора индоцианина зеленого с добавлением ДМСО (1) и первых трех отрывов кожи, окрашенной этим раствором (2 — первый отрыв, 3 — второй отрыв и 4 — третий отрыв).

поглощения первого и второго отрывов показывает, что на поверхности не осталось свободного индоцианина. На рис. 2 видно, что положения пиков поглощения первого и второго отрывов различаются между собой. Спектр второго отрыва еще больше смещен в длинноволновую область. Величина сдвига составила 16 и 21 nm соответственно для первого и второго отрывов. Эти различия в спектрах свидетельствуют о том, что на поверхности кожи находился как свободный, так и связанный краситель, а на глубине $\sim 5 \mu\text{m}$ присутствовал только связанный краситель.

Анализируя спектры индоцианина зеленого в растворах и в тканях эпидермиса, нужно отметить также изменение формы спектров. Главный максимум спектра поглощения значительно снизился и стал сравнимым со вторым пиком, находящимся в области $\sim 715 \text{ nm}$. Такой вид спектра

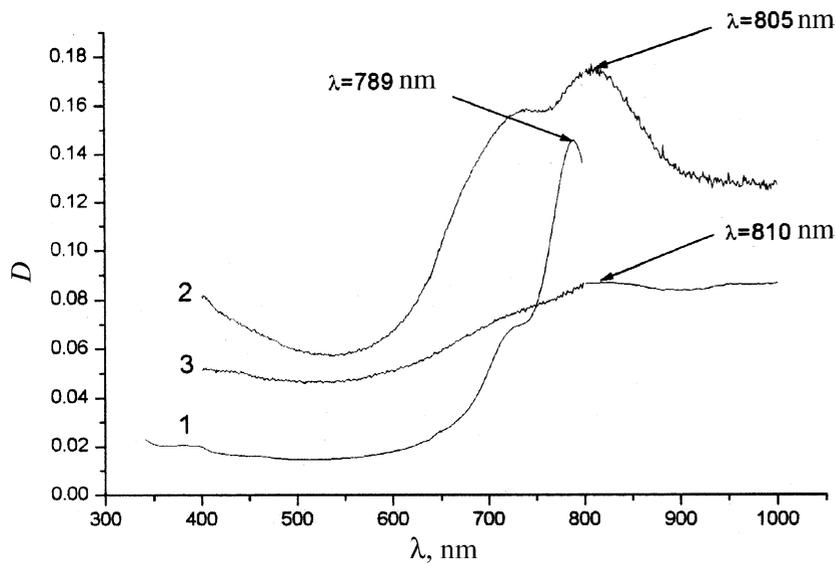


Рис. 2. Спектры оптической плотности спиртово-глицеринового раствора индоцианина зеленого (1) и первых двух отрывов кожи, окрашенной этим раствором (2 — первый отрыв, 3 — второй отрыв).

индоцианина зеленого характерен для растворов красителя в воде, плазме крови, альбумине [18]. Так как основным белком эпидермиса является кератин, то смещение максимума поглощения и изменение формы спектра индоцианина зеленого, скорее всего, объясняется его связыванием с кератином.

Таким образом, в настоящей работе впервые определена величина смещения длины волны максимума поглощения индоцианина зеленого при окраске рогового слоя эпидермиса человека *in vivo*. Подобное изменение в спектре поглощения индоцианина зеленого — красителя, нашедшего широкое применение в лазерном термолизе, необходимо учитывать при выборе длины волны излучения для более эффективного удаления опухолей кожи, лечения кожных заболеваний, удаления волос и т. д.

Исследование, проведенное в данной работе, было выполнено при финансовой поддержке Palomar Medical Technologies, Inc., гранта "Ведущие научные школы" № 00-15-96667 Российского фонда фундаментальных исследований и гранта CRDF № REC-006 (U.S. Civilian Research & Development Foundation for the Independent States of the Former Soviet Union).

Список литературы

- [1] *Bradley E.C., Barr J.W.* // *Life Sci.* 1968. V. 7. P. 1001-1007.
- [2] *Fox I.J., Wood E.N.* // *Mayo Clin. Proc.* 1960. V. 35. N 25. P. 732-744.
- [3] *Leevy C.M., Smith F., Longueville J.* et al. // *JAMA* 200. 1967. P. 236-240.
- [4] *Flower R.W., Hochheimer B.F.* // *Johns Hopkins Med. J.* 1976. V. 138. P. 33-42.
- [5] *Monata G., Brulisauer M., Jager K.* et al. // *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1987. V. 6. P. 25-34.
- [6] *Riefke B., Licha K., Semmler W.* et al. // *SPIE Proc.* 1996. V. 2927. P. 199-208.
- [7] *Chen W.R., Adams R.L., Heaton S.* et al. // *Cancer Lett.* 1995. V. 88. P. 15-19.
- [8] *Chen W.R., Adams R.L., Bartels K.E.* et al. // *Cancer Lett.* 1995. V. 94. P. 125-131.
- [9] *Chen W.R., Adams R.L., Higgins A.K.* et al. // *Cancer Lett.* 1996. V. 98. P. 169-173.
- [10] *Chen W.R., Adams R.L., Carubelli R.* et al. // *Cancer Lett.* 1997. V. 115. P. 25-30.
- [11] *Chen W.R., Zhu W.-G., Dynlacht J.R.* et al. // *Int. J. Cancer.* 1999. V. 81. P. 808-812.
- [12] *Reichel E., Puliafito C.A., Duker J.S.* et al. // *Ophtalm. Surg.* 1994. V. 25. P. 195-201.
- [13] *DeCoste S.D., Farinelli W., Flotte T.* et al. // *Laser Surg. Med.* 1992. V. 12. P. 25-32.
- [14] *Genina E.A., Bashkatov A.N., Sinichkin Yu.P.* et al. // *SPIE Proc.* 2000. V. 4142. P. 63-70.
- [15] *Ciamberlini C., Guarnieri V., Longobardi G.* et al. // *J. Biomed. Opt.* 1997. V. 2. P. 218-225.
- [16] *Weersink R.A., Hayward J.E., Diamond K.R.* et al. // *J. Photochem. Photobiol.* 1997. V. 66. P. 326-335.
- [17] *Fickweiler S., Szeimies R.-M., Baumler W.* et al. // *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.* 1997. V. 38. P. 178-183.
- [18] *S.L. Lacques's website: www.omlc.ogi.edu*