



<http://dx.doi.org/10.35596/1729-7648-2020-18-8-5-13>

Оригинальная статья
Original paper

УДК 535.37+543.426+538.958

СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ В ТКАНЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

САМЦОВ М.П.¹, ТАРАСОВ Д.С.^{1,2}, ЛУГОВСКИЙ А.П.¹, ПЕТРОВ П.Т.³, САВИН А.О.³,
ЗИЛЬБЕРМАН Р.Д.³, ВОРОПАЙ Е.С.²

¹НИУ «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» БГУ
(г. Минск, Республика Беларусь)

²Белорусский государственный университет (г. Минск, Республика Беларусь)

³ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» (г. Минск, Республика Беларусь)

Поступила в редакцию 6 ноября 2020

© Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, 2020

Аннотация. В работе приведены результаты исследований спектральных свойств фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя при накоплении в тканях экспериментальных животных. С помощью лазерной флуоресцентной спектроскопии получены спектры флуоресценции *in vivo* и *ex vivo* локализованного в тканях индотрикарбоцианинового красителя для разных временных отсчетов после внутривенного введения. По изменению интенсивности флуоресценции в опухолевой и здоровой мышечной тканях фотосенсибилизатора определен профиль фармакокинетики его накопления и вывода. Выявлена монотонная деформация его спектра флуоресценции в тканях опухолевых узлов и мышц бедра при регистрации через кожу с течением времени после внутривенного введения. Достижение максимального накопления фотосенсибилизатора в опухолевом узле коррелирует со стабилизацией формы его спектра флуоресценции *in vivo*. При этом смещение максимума может использоваться в качестве диагностического индикатора максимального накопления индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора в тканях опухолевых узлов. Результаты подтверждены для двух групп животных: первая – черные мыши линии C57Bl/6 с перевитой опухолью меланомы Clone M3, вторая – белые мыши линии ICR с перевитой опухолью асцитной карциномы Эрлиха. Проведен анализ формы спектра флуоресценции фотосенсибилизатора при регистрации через кожу для животных с разной окраской.

Ключевые слова: трикарбоцианиновые красители, лазерная флуоресцентная спектроскопия, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, фармакокинетика.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования. Самцов М.П., Тарасов Д.С., Луговский А.П., Петров П.Т., Савин А.О., Зильберман Р.Д., Воропай Е.С. Спектральные свойства индотрикарбоцианинового красителя в тканях экспериментальных животных. Доклады БГУИР. 2020; 18(8): 5-13.

SPECTRAL PROPERTIES OF INDOTRICARBOCYANINE DYE IN TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS

MIKHAIL P. SAMTISOV¹, DMITRIJ S. TARASOV^{1,2}, ANATOLY P. LUGOVSKI¹,
PETR T. PETROV³, ALEXANDER O. SAVIN³, ROMAN D. ZILBERMAN³,
EUGENE S. VOROPAY²

¹*A.N Sevchenko Institute for Applied Physical Problems of BSU (Minsk, Republic of Belarus)*

²*Belarussian State University (Minsk, Republic of Belarus)*

³*The Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences (Minsk, Republic of Belarus)*

Submitted 6 November 2020

© Belarussian State University of Informatics and Radioelectronics, 2020

Abstract. The paper presents the results of studies of the spectral properties of a photosensitizer based on indotricarbocyanine dye when accumulating in tissues of experimental animals. Using laser fluorescence spectroscopy, the *in vivo* and *ex vivo* fluorescence spectra of tissue-localized indotricarbocyanine dye were obtained for different time counts after intravenous administration. The profile of the pharmacokinetics of its accumulation and withdrawal was determined from the change in the intensity of fluorescence in the tumor and healthy muscle tissues of the photosensitizer. A monotonic deformation of its fluorescence spectrum was revealed in the tissues of tumor nodes and muscles of the thigh when registered through the skin over time after intravenous administration. The achievement of the maximum accumulation of the photosensitizer in the tumor correlates with the stabilization of the shape of its *in vivo* fluorescence spectrum. Thus, the maximum shift can be used as a diagnostic indicator of the maximum accumulation of indotricarbocyanine photosensitizer in the tumor tissues. The results were confirmed for two groups of animals: the first one – black mice of the C57Bl/6 line with an inoculated tumor of Clone M3 melanoma, the second – white mice of the ICR line with an inoculated tumor of Ehrlich ascites carcinoma. The analysis of the shape of the fluorescence spectrum of the photosensitizer during registration through the skin for animals with different colors has been carried out.

Keywords: tricarbocyanine dyes, laser-induced fluorescence spectroscopy, photodynamic therapy, photosensitizer, pharmacokinetics.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For citation. Samtsov M.P., Tarasov D.S., Lugovski A.P., Petrov P.T., Savin A.O., Zilberman R.D., Voropay E.S. Spectral properties of indotricarbocyanine dye in tissues of experimental animals. Doklady BGUIR. 2020; 18(8): 5-13.

Введение

Флуоресцентные методы исследований являются одними из наиболее информативных при оптической диагностике тканей *in vivo* [1, 2]. В особенности они оказались эффективными при использовании препаратов, которые обладают флуоресценцией в окне прозрачности биологических тканей – 700–900 нм. Развитие возможностей одно- и многоканальных детекторов, лазеров, рост мощности вычислительной техники, а также совершенствование моделей распространения оптического излучения в тканях привели к появлению разнообразной аппаратуры для флуоресцентной визуализации [3]. В основе подобных систем – регистрация флуоресценции с помощью ФЭУ или CCD-матриц при пространственном сканировании образцов непрерывным или импульсным лазерным излучением. Обеспечение высокого пространственного разрешения зачастую ведет к ухудшению спектрального разрешения и увеличению продолжительности процесса однократного измерения (единицы и десятки минут) [4]. В связи с этим в исследованиях *in vivo* остаются востребованными методы, основанные на контактном способе регистрации флуоресценции. Лазерная флуоресцентная спектроскопия с использованием Y-образного оптоволокна оказалась

эффективной в исследованиях состояния и фармакокинетики фотосенсибилизатора (ФС) на основе индотрикарбоцианинового красителя [5].

В данной работе приведены результаты исследования спектрально-люминесцентных свойств индотрикарбоцианинового ФС в тканях экспериментальных животных *in vivo* и *ex vivo*.

Методика проведения эксперимента

Объектом исследования является разрабатываемый в НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ водорастворимый симметричный индотрикарбоцианиновый краситель, для которого установлена высокая фотодинамическая активность [6]. Чистота синтезированного красителя контролировалась с помощью хромато-масс спектрометрии, а также по спектрам поглощения, флуоресценции и возбуждения флуоресценции. Высокая растворимость в воде и биосовместимость этого красителя обусловлена присутствием в структуре молекул объемных гидрофильных заместителей – цепочек ПЭГ. Место замещения выбиралось из соображения минимального их влияния на фотофизические свойства красителя (рис. 1). Исследования проводились с использованием прототипа лекарственной формы ФС – хроматографически чистого красителя на кристаллической безводной глюкозе. Соотношение компонент подобрано таким образом, чтобы концентрация глюкозы в инфузионном растворе составляла 5 %.

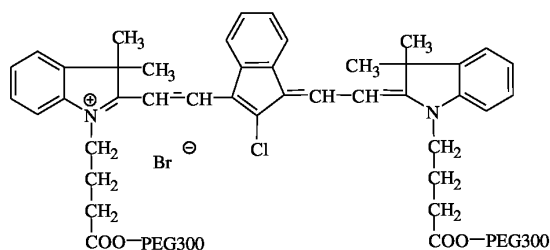


Рис. 1. Структура индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора
Fig. 1. Structure of the indotricarbocyanine photosensitizer

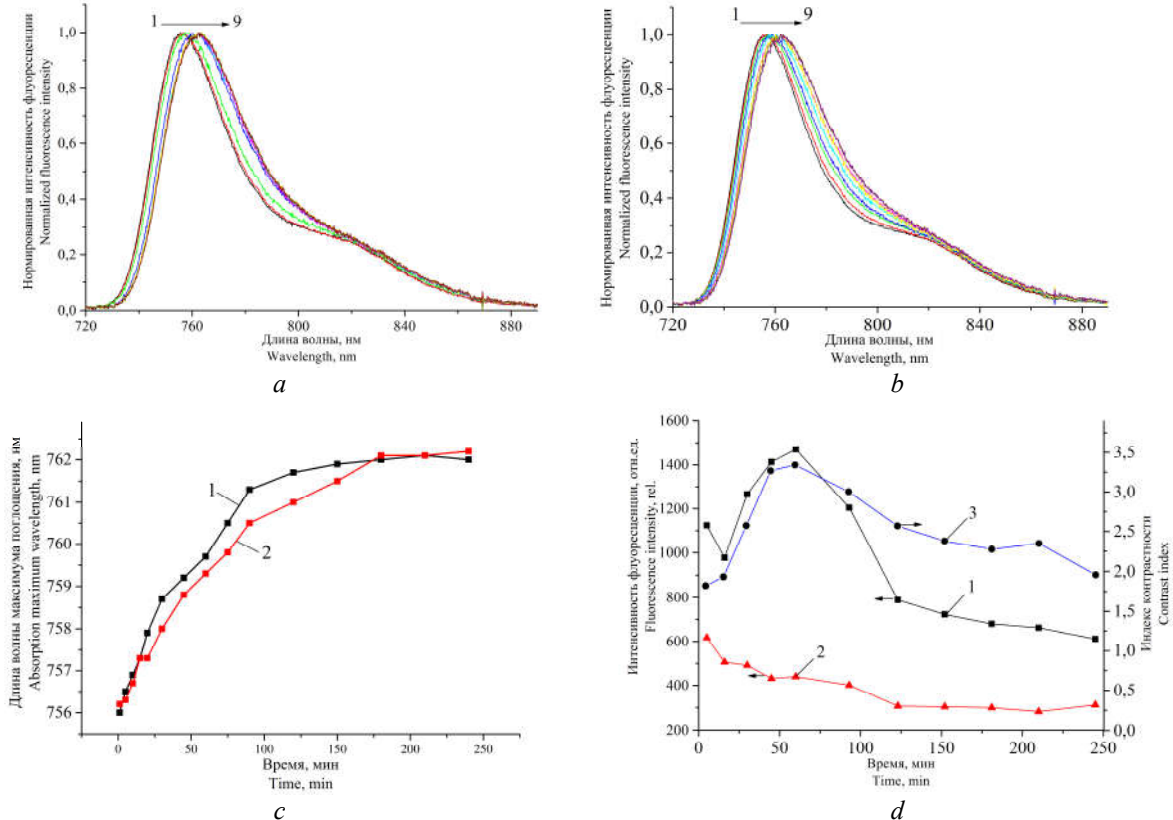
Закономерности накопления и выведения индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора проводились для двух групп животных. Первая группа сформирована из черных мышей линии C57Bl/6 с перевитой опухолью меланомы Clone M3, а вторая – из белых мышей линии ICR с перевитой опухолью асцитной карциномы Эрлиха. Опухоль перевивали на наружную поверхность бедра взвесью опухолевых клеток ($1 \cdot 10^{-6}$) в 0,1 мл стерильной питательной среды. Подсчет жизнеспособных клеток проводили с помощью камеры Горяева в 100 квадратах. Испытуемая группа укомплектовывалась животными, опухоли которых достигли размеров 5–6 мм по длине и ширине. Фотосенсибилизатор вводился внутривенно в дозе 10,7 мг/кг. Данные по фармакокинетики накапливались на протяжении 4–5 ч после внутривенного введения препарата с шагом сканирования по времени 5–30 мин. Для оценки эффективности выведения фотосенсибилизатора дополнительно измерялась точка через сутки после введения. Статистическая достоверность результатов обеспечивалась измерениями для группы из 8 животных.

Накопление индотрикарбоцианинового ФС в тканях лабораторных животных выполнялось путем регистрации спектров флуоресценции с помощью разработанного в НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ лазерного флуоресцентного спектрометра с оптоволоконным вводом возбуждающего излучения и свечения флуоресценции [7]. В качестве источника возбуждения в спектрометре используется полупроводниковый лазер с длиной волны излучения 684 нм. Оптическая система спектрометра состоит из излучателя-светоколлектора, малогабаритного полихроматора и блока фотоприемника (ПЗС-линейка). Биологические ткани ввиду наличия кровеносной системы характеризуются неравномерностью оптических свойств. Для обеспечения усреднения регистрируемого сигнала по объему исследуемого образца световод углублен в светоколлектор спектрометра на 5 мм. Управление спектрометром осуществляется с помощью персонального компьютера с оригинальным программным обеспечением.

Результаты и их обсуждение

В ходе работы установлено, что с течением времени после внутривенного введения ФС наблюдается деформация его спектра флуоресценции в тканях *in vivo*, что проявляется главным образом в длинноволновом смещении максимума спектра флуоресценции (рис. 2, 3).

Так, в группе черных мышей линии C57Bl/6 с перевитой опухолью меланомы Clone-M3 наиболее интенсивные изменения происходят в течение первого часа: в опухолевом узле максимум флуоресценции смещается с 756,0 до 760,5 нм, а в мышце бедра – с 756,0 до 760,0 нм (рис. 2). Через 80–120 мин параметры спектра флуоресценции ФС в опухолевом узле и здоровых мышечных тканях выходят на квазистационарное состояние. Положение максимума флуоресценции стабилизируется вблизи 762,0 нм.



На рис. *a* и *b* цифрами от 1 до 9 отмечены спектры через 4, 15, 30, 46, 80, 123, 150, 203 и 242 мин; на рис. *c*: 1 – опухоль, 2 – бедро; на рисунке *d*: 1 – опухоль, 2 – бедро, 3 – индекс контрастности
Рис. 2. Нормированные спектры флуоресценции ФС в тканях меланомы Clone M3 (*a*) и бедра (*b*) черных мышей линии C57Bl/6 для разных временных отсчетов после введения, изменение положения максимума (*c*) и интенсивности флуоресценции (*d*)

On the figures *a* and *b* the numbers from 1 to 9 mark the spectra in 4, 15, 30, 46, 80, 123, 150, 203 and 242 min; on the figure *c*: 1 – tumor, 2 – thigh; on the figure *d* 1 – tumor, 2 – thigh, 3 – contrast index

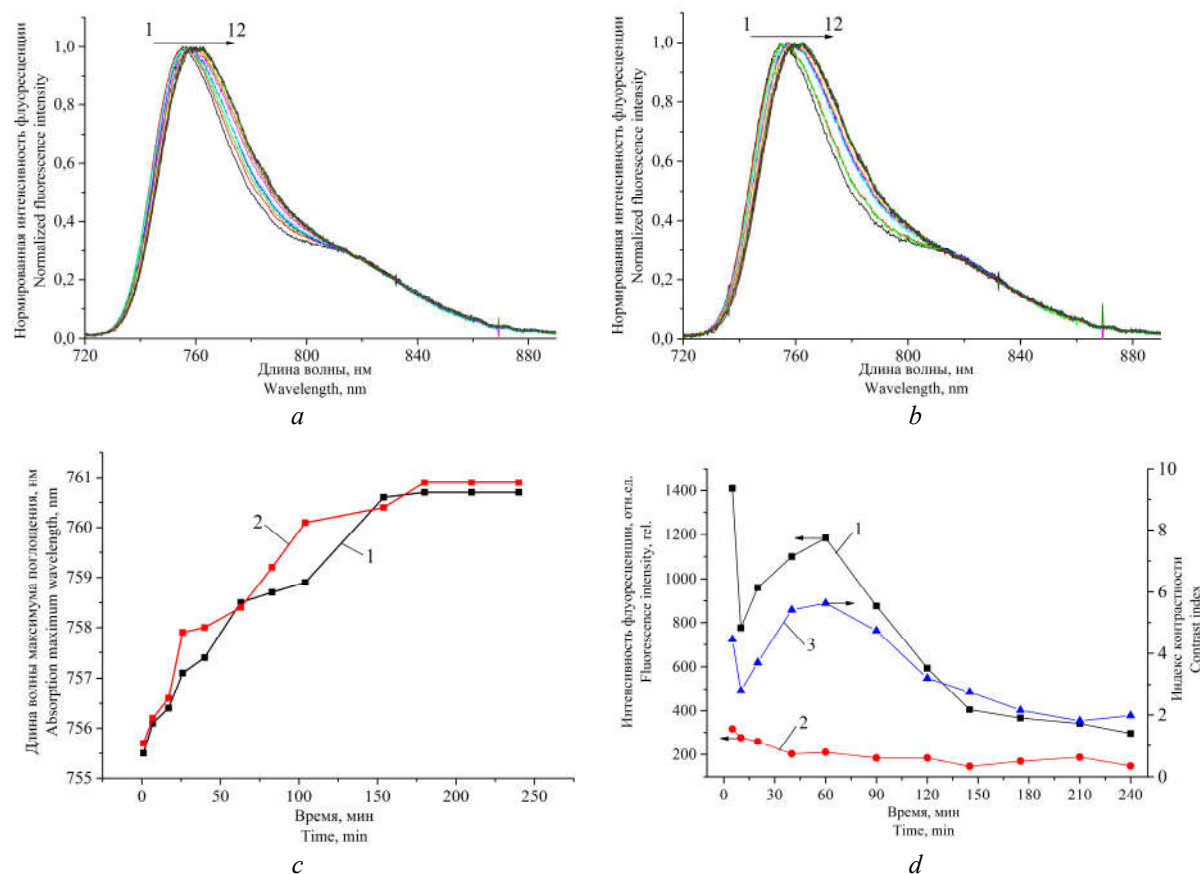
Fig. 2. Normalized PS fluorescence spectra in tissues of Clone M3 melanoma (*a*) and thigh (*b*) of black C57Bl/6 mice for different time after injection, change in the fluorescence maximum (*c*) and intensity (*d*)

Интенсивность свечения ФС в опухолевом узле с течением времени проходит через локальный минимум на 10–15 минуте после внутривенного введения, а через 60 мин наблюдается локальный максимум. Сигнал флуоресценции ФС при регистрации от здоровой мышечной ткани монотонно уменьшается в течение всего периода наблюдения. Положение локального минимума на кинетике изменения интенсивности флуоресценции для опухолевого узла коррелирует с быстрым уменьшением сигнала флуоресценции в течение первых 15 мин в мышце. По всей видимости, на данном временном интервале значительная часть красителя локализована в крови. На последующих временных интервалах (>60 мин) сигнал флуоресценции ФС в тканях монотонно уменьшается. Усредненный в пределах группы

животных индекс контрастности (отношение интенсивностей флуоресценции в опухолевой и здоровой мышечной тканях) достигает 3,3.

В опухолевой и мышечной тканях наблюдается идентичная деформация спектра флуоресценции ФС *in vivo* с течением времени после внутривенного введения; можно говорить о совпадении положения и формы. Небольшое различие обнаруживается только в скорости выхода на квазистационарное положение, что может быть обусловлено более быстрым процессом обмена веществ в тканях опухоли. Одним из факторов, способствующим ускорению обмена веществ в опухолевых тканях, является характерная для них повышенная васкуляризация.

При исследованиях для группы белых мышей линии ICR с перевитой асцитной карциномой Эрлиха наиболее интенсивные изменения в спектрах флуоресценции ФС происходят в течение первых 80–100 мин, выход на квазистационарное состояние происходит через 100–150 мин. При этом диапазон изменения положения максимума флуоресценции составляет 755,5–760,8 нм (рис. 3). Не обнаруживаются различия в поведении спектров флуоресценции с течением времени после введения для опухолевой и здоровой мышечной тканей. Профиль изменения со временем интенсивности флуоресценции ФС аналогичен наблюдаемому для группы мышей линии C57Bl/6. Максимальное значение среднего по группе животных индекса контрастности составляет 5,6.



На рис. *a* и *b* цифрами от 1 до 12 отмечены спектры через 1, 7, 17, 26, 40, 63, 83, 104, 154, 180, 210 и 240 мин; на рис. *c*: 1 – опухоль, 2 – бедро; на рис. *d*: 1 – опухоль, 2 – бедро, 3 – индекс контрастности

Рис. 3. Нормированные спектры флуоресценции ФС в тканях асцитной карциномы Эрлиха (*a*) и бедра (*b*) белых мышей линии ICR для разных временных отсчетов после введения, изменение положения максимума (*c*) и интенсивности флуоресценции (*d*)

On the fig. *a* and *b* the numbers from 1 to 12 mark the spectra in 1, 7, 17, 26, 40, 63, 83, 104, 154, 180, 210 and 240 min; on the fig. *c*: 1 – tumor, 2 – thigh; on the fig. *d*: 1 – tumor, 2 – thigh, 3 – contrast index

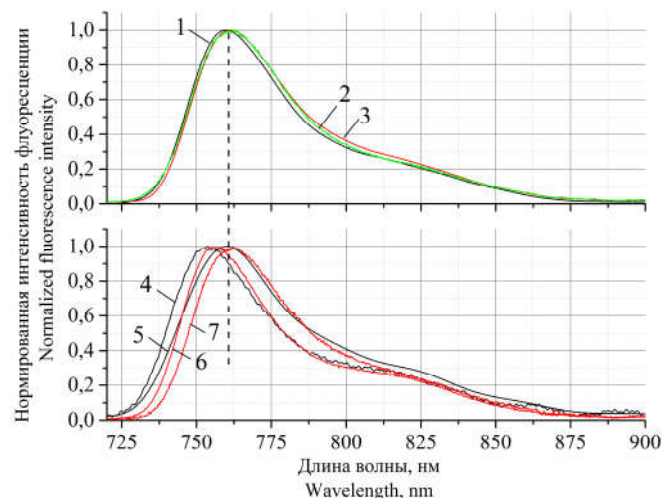
Fig. 3. Normalized PS fluorescence spectra in tissues of Ehrlich ascites carcinoma (*a*) and thigh (*b*) of white ICR mice for different time after injection, change in the fluorescence maximum (*c*) and intensity (*d*)

Ранее в работе [8] было установлено совпадение фотофизических параметров индотрикарбоцианинового ФС в тканях экспериментальных животных и растворах сыворотки крови. В условиях, когда сигнал флуоресценции регистрируется с одинакового объема, это позволяет использовать интенсивность флуоресценции в качестве меры накопления ФС в тканях. В представленных в данной работе исследованиях это условие обеспечивалось путем регистрации на образцах тканей с приблизительно одинаковой толщиной.

Несмотря на то, что деформация спектров флуоресценции ФС при регистрации через кожу установлена для обоих исследованных в работе линий мышей *in vivo* (белых ICR и черных C57Bl/6), обнаружено отличие диапазонов длин волн, в которых происходит смещение максимума флуоресценции ФС. Объяснение этому может быть найдено, если учесть влияние оптических свойств тканей при регистрации флуоресценции через кожу.

Мыши линий C57Bl/6 и ICR отличаются по окраске: первые – белые, вторые – черные. Различия проявляются не только в окраске шерстяного покрова, но и кожи [9]. Черная окраска кожи мышей линии C57Bl/6 обусловлена содержанием в них пигмента меланина, который обладает интенсивным поглощением в полосе флуоресценции красителя. При этом коэффициент поглощения меланина в пределах полосы флуоресценции ФС уменьшается с ростом длины волны [10, 11]. Разумно предположение, что в экспериментах на мышах линии C57Bl/6 при регистрации через кожу спектры флуоресценции ФС из здоровых мышечных тканей и перевитой опухоли дополнительно деформированы за счет поглощения меланином в коже свечения флуоресценции (эффект внутреннего фильтра).

На рис. 4 приведены спектры флуоресценции индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора в коже, мышце и опухоли *ex vivo*, которые были зарегистрированы с помощью контактного флуоресцентного спектрометра через поверхность соответствующего образца. Размеры образцов соответствовали таковым при измерениях *in vivo*. Образцы имели следующие характерные значения толщины: кожа ~0,4 мм, мышца ~2,5 мм, опухоль ~2,5 мм. В некотором смысле выполнена послынная регистрация спектра флуоресценции. Для сравнения приведены спектры флуоресценции ФС в мышце бедра мышей линии ICR и C57Bl/6 *in vivo*.



В верхней части рисунка приведены спектры через 4 ч после введения ФС: 1 – мышца, 2 – кожа, 3 – меланома Clone M3; в нижней части рисунка приведены спектры в мышце мышей линий ICR (4–5 мин, 5–70 мин) и C57Bl/6 (6–5 мин, 7–70 мин)

Рис. 4. Нормированные спектры флуоресценции ФС в тканях мышей линии C57Bl/6 *ex vivo* (верх) и в мышце бедра мышей разных линий *in vivo* (низ) при внутривенном введении в дозе 10,7 мг/кг
The top part of the figure shows the spectra 4 h after the PS injection: 1 – muscle, 2 – skin, 3 – Clone M3 melanoma; the bottom part of the figure shows the spectra in the muscle of ICR mice (1–5 min, 2–70 min) and C57Bl/6 (3–5 min, 4–70 min)

Fig. 4. Normalized the PS fluorescence spectra in tissues of C57Bl/6 mice *ex vivo* (top) and in the thigh muscle of different mice lines *in vivo* (bottom) with intravenous injection at a dose of 10.7 mg/kg

Наблюдается общая закономерность смещения спектров флуоресценции в образцах тканей мышей линии C57Bl/6 в длинноволновую область приблизительно на 1–2 нм

по сравнению с флуоресценцией ФС в тканях белой мыши ICR. С другой стороны, длинноволновое смещение максимума спектра флуоресценции ФС в образцах тканей *ex vivo* меньше, чем при регистрации через кожу *in vivo* (762,0 нм): мышца – 760,0 нм, кожа – 761,5 нм, опухоль меланомы М3 – 761,5 нм. Меньшее смещение спектра флуоресценции ФС при регистрации от отдельных слоев с точки зрения внутреннего фильтра объясняется уменьшением эффективной толщины слоя, в котором происходит поглощение флуоресценции.

Важно отметить, что при достаточно малой толщине образца кожи (~0,4 мм) для нее наблюдается значительное смещение спектра флуоресценции, что указывает на более высокую концентрацию пигмента меланина в ней, чем в опухоли М3. Разумно утверждать, что при регистрации спектра флуоресценции *in vivo* через кожу наибольшее значение будет иметь деформация спектра при прохождении излучения через нее. Данное утверждение подтверждено в модельном эксперименте *ex vivo* с образцами опухолевой и мышечной тканей мышей линии ICR с перевитой опухолью Эрлиха, которым вводился индотрикарбоцианиновый ФС. Исследуемые образцы накрывались кожей интактной мыши линии ICR или C57Bl/6, спектры флуоресценции ФС регистрировались соответственно через внешнюю поверхность кожи, что имитировало геометрию измерения *in vivo* от одного образца через кожу разной окраски. В результате спектры флуоресценции ФС при регистрации через кожу черных мышей оказывались на 1–2 нм смещены в длинноволновую область по отношению к случаю регистрации через кожу белых мышей.

В обеих группах животных максимальное накопление ФС в опухолевом узле и достижение индекса контрастности максимального значения происходит практически одновременно – через 60 мин после введения. С другой стороны, в этот момент времени происходит стабилизация параметров спектра флуоресценции. Как было показано в работе [12], взаимодействие данного красителя с белками плазмы крови носит кинетический характер, что проявляется в длинноволновом смещении спектра флуоресценции со временем после введения красителя в раствор сыворотки крови. Можно ожидать, что в условиях *in vivo* также будет наблюдаться данный эффект, причем на него дополнительно будут накладываться процессы, связанные с накоплением и выведением ФС.

Практическое значение здесь имеет возможность путем анализа формы спектра флуоресценции ФС определять момент начала фотовоздействия во время сеанса фотодинамической терапии. Следует учитывать то, что деформация спектра флуоресценции в меньшей степени зависит от толщины слоя ткани по сравнению с ее интенсивностью. Это позволяет по величине смещения максимума спектра флуоресценции контролировать момент выхода на максимальное накопление ФС в опухолевом узле и максимальный индекс контрастности ФС. Это особенно важно в условиях, когда нет возможности контролировать толщину образца, с которого собирается флуоресценция. В обеих группах смещение максимума флуоресценции в длинноволновую область составляет 5 нм по отношению к положению спектра флуоресценции сразу после введения.

Заключение

Таким образом, по результатам исследования спектрально-люминесцентных свойств локализованного в тканях экспериментальных животных *in vivo* индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора установлена регулярная деформация его спектра в опухолевом узле и мышце бедра при регистрации через кожу в зависимости от времени после внутривенного введения. Показано, что смещение максимума спектра флуоресценции может использоваться в качестве диагностического индикатора максимального накопления индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора в опухолевом узле по отношению к здоровым мышечным тканям. Установлено, что смещение максимума флуоресценции индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора в мышечных и опухолевых тканях черных мышей линии C57Bl/6 при регистрации через кожу располагается на 1–2 нм в более длинноволновой области по сравнению с тканями белых мышей линии ICR. Данный эффект интерпретирован с точки зрения проявления эффекта внутреннего фильтра вследствие наличия меланина в коже мышей линии C57Bl/6.

Список литературы

1. Bachmann L., Zzell D.M., Ribeiro A.D.C., Gomes L., Ito A.S. Fluorescence spectroscopy of biological tissues—A review. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2006;41(6):575-590.
2. Wagnieres G.A., Star W.M., Wilson B.C. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochemistry and photobiology*. 1998;68(5):603.
3. Ntziachristos V. Fluorescence molecular imaging. *Annu Rev Biomed Eng*. 2006;8:1-33.
4. Тарасов Д.С., Самцов М.П., Казачкина Н.И., Савицкий А.П., Жердева В.В., Савин А.О., Зильберман Р.Д., Насек В.М., Петров П.Т. Распределение фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя в тканях животных in vivo. *Доклады БГУИР*. 2018;7:69-73.
5. Каплевский К.Н., Луговский А.А., Ляшенко Л.С., Тарасов Д.С. Особенности регистрации флуоресценции индотрикарбоцианиновых красителей в биотканях. *Молодежь в науке – 2012: приложение к журналу «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». В 5 ч. Ч 3. Серія фізіка-матэматычных навук*. 2013:14-20.
6. Lugovski A.A., Samtsov M.P., Kaplevsky K.N., Tarasau D.S., Voropay E.S., Petrov P.T., Istomin Y.P. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2016;316:31-36.
7. Ермалицкий Ф.А., Радько А.Е., Каплевский К.Н., Шевченко К.А. Спектрометрический комплекс для фотохимиотерапии с мощным светодиодом. *Лазерная и оптико-электронная техника*. 2008:254-263.
8. Самцов М.П., Тарасов Д.С., Горященко А.С., Казачкина Н.И., Жердева В.В., Савицкий А.П., Меерович И.Г. Оптимизация параметров фантома для диффузионной флуоресцентной томографии биотканей in vivo. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2018;1:33-40.
9. Curtis A., Calabro K. Temporal Variations of Skin Pigmentation in C57Bl/6 Mice Affect Optical Bioluminescence Quantitation. *Molecular Imaging and Biology*. 2011;13:1114-1123.
10. Wolbarsht M.L., Walsh A.W., George G. Melanin, a unique biological absorber. *Applied Optics*. 1981;20(13):2184-2186.
11. Zonios G., Dimou A., Bassukas I., Galaris D., Tsolakidis A., Kaxiras E. Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection. *Journal of biomedical optics*. 2008;13(1):014017.
12. Белько Н.В., Хлудеев И.И., Зорин В.П., Самцов М.П. Влияние комплексообразования с белками плазмы крови на спектральные характеристики трикарбоцианиновых красителей. *Весці БДПУ. Серыя 3. Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія*. 2018;1:14-20.

References

1. Bachmann L., Zzell D.M., Ribeiro A.D.C., Gomes L., Ito A.S. Fluorescence spectroscopy of biological tissues—A review. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2006;41(6):575-590.
2. Wagnieres G.A., Star W.M., Wilson B.C. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochemistry and photobiology*. 1998;68(5):603.
3. Ntziachristos V. Fluorescence molecular imaging. *Annu Rev Biomed Eng*. 2006;8:1-33.
4. Tarasov D.S., Samtsov M.P., Kazachkina N.I., Savitsky A.P., Zherdeva V.V., Savin A.O., Zilberman R.D., Nasek V.M., Petrov P.T. [Distribution of photosensitizer based on indotricarbocyanine dye in the animal tissues in vivo]. *Doklady BGUIR = Doklady BGUIR*. 2018;7:69-73. (In Russ.)
5. Kaplevsky K.N., Lugovski A.A., Lyashenko L.S., Tarasov D.S. [Features of registration of fluorescence of indotricarbocyanine dyes in biological tissues]. *Molodezh' v nauke – 2012: pril. k zhurn. «Vesci Nacyyanal'naj akademii navuk Belarusi». V 5 ch. CH 3. Seriya fiziko-matematicheskikh nauk*. 2013:14-20. (In Russ.)
6. Lugovski A.A., Samtsov M.P., Kaplevsky K.N., Tarasau D.S., Voropay E.S., Petrov P.T., Istomin Y.P. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2016;316:31-36.
7. Ermalickij F.A., Rad'ko A.E., Kaplevskij K.N., Shevchenko K.A. [Spectrometric complex for photochemotherapy with a powerful LED]. *Lazernaya i optiko-elektronnaya tekhnika*. 2008:254-263. (In Russ.)
8. Samtsov M.P., Tarasov D.S., Goryashchenko A.S., Kazachkina N.I., Zherdeva V.V., Savitsky A.P., Meerovich I.G. [Optimization of the phantom parameters for diffuse optical fluorescence tomography of biotissues in vivo]. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Fizika. = Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2018;1:33-40. (In Russ.)
9. Curtis A., Calabro K. Temporal Variations of Skin Pigmentation in C57Bl/6 Mice Affect Optical Bioluminescence Quantitation. *Molecular Imaging and Biology*. 2011;13:1114-1123.
10. Wolbarsht M.L., Walsh A.W., George G. Melanin, a unique biological absorber. *Applied Optics*. 1981;20(13):2184-2186.
11. Zonios G., Dimou A., Bassukas I., Galaris D., Tsolakidis A., Kaxiras E. Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection. *Journal of biomedical optics*. 2008;13(1):014017.

12. Bel'ko N.V., Khludeyev I.I., Zorin V.P., Samtsov M.P. [Influence of complexation with blood plasma proteins on the spectral characteristics of tricarbocyanine dyes]. *Vesci BDPU. Seryya 3. Fizika. Matematyka. Infarmatyka. Biyalogiya. Geagrafiya = BSPU Bulletin. SERIES 3. Physics. Mathematics. Informatics. Biology. Geography.* 2018;1:14-20. (In Russ.)

Вклад авторов

Самцов М.П. и Тарасов Д.С. осуществили подготовку и проведение экспериментов, выполнили анализ полученных результатов, оформили рукопись статьи.

Луговский А.П. провел синтез исследованного индотрикарбацианинового красителя.

Петров П.Т., Савин А.О. и Зильберман Р.Д. участвовали в проведении отдельных экспериментов *in vivo* и *ex vivo* с экспериментальными животными по установлению спектральных свойств индотрикарбацианинового красителя в тканях.

Воропай Е.С. принимал участие в обобщении и интерпретации результатов.

Authors' contribution

Samtsov M.P. and Tarasov D.S. carried out the preparation and conduct of experiments, performed an analysis of the results obtained, and drafted the manuscript of the article.

Lugovski A.P. carried out the synthesis of the investigated tricarbocinin dyes.

Petrov P.T., Savin A.O. and Zilberman R.D. participated in conducting separate *in vivo* and *ex vivo* experiments with experimental animals to establish the spectral properties of indotricarbocyanine dye in tissues.

Voropay E.S. took part in the generalization and interpretation of the results.

Сведения об авторах

Самцов М.П., д.ф.-м.н., доцент, заведующий лабораторией спектроскопии НИИ прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ.

Тарасов Д.С., к.ф.-м.н., научный сотрудник лаборатории спектроскопии НИИ прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ.

Луговский А.П., к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории спектроскопии НИИ прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ.

Петров П.Т., к.х.н., заведующий лабораторией фармацевтических испытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Савин А.О., младший научный сотрудник лаборатории токсикологии Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Зильберман Р.Д., старший научный сотрудник лаборатории токсикологии Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Воропай Е. С., д.ф.-м.н., профессор, профессор кафедры лазерной физики и спектроскопии БГУ.

Information about the authors

Samtsov M.P., D.Sci, Associate Professor, Head of the Spectroscopy Laboratory of A.N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of BSU.

Tarasov D.S., PhD, Researcher of the Spectroscopy Laboratory of A.N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of BSU.

Lugovski A.P., PhD, Leading Researcher of the Spectroscopy Laboratory of A.N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of BSU.

Petrov P.T., PhD, Head of the Laboratory of Pharmaceutical Testing of The Institute of Bioorganic Chemistry of NAS of Belarus.

Savin A.O., Junior Researcher of the Laboratory of Toxicology of The Institute of Bioorganic Chemistry of NAS of Belarus.

Zilberman R.D., Senior Researcher of the Laboratory of Toxicology of The Institute of Bioorganic Chemistry of NAS of Belarus.

Voropay E.S., D.Sci, Professor, Professor of the Department of Laser Physics and Spectroscopy of BSU.

Адрес для корреспонденции

220045, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Курчатова, 7,
НИУ «Институт прикладных физических
проблем имени А.Н. Севченко» БГУ
тел. 8-017-212-41-44, 8-029-879-25-04;
e-mail: dmitrij-tarasov@list.ru
Тарасов Дмитрий Сергеевич

Address for correspondence

220045, Republic of Belarus,
Minsk, Kyrchatov str. 7,
A.N. Sevchenko Institute for Applied Physical
Problems of BSU
tel. 8-017-212-41-44, 8-029-879-25-04
e-mail: dmitrij-tarasov@list.ru
Tarasov Dmitrij Sergeevich