

Единовременный анализ микрообластей кариозного дентина методами лазерно-индуцированной флуоресценции и рамановской спектроскопии

© П.В. Середин¹, Д.Л. Голощапов¹, Т. Prutskij², Ю.А. Ипполитов³

¹ Воронежский государственный университет,
394018 Воронеж, Россия

² Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,
72570 Puebla, Mexico

³ Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко,
394036 Воронеж, Россия

e-mail: paul@phys.vsu.ru

Поступила в редакцию 14.07.2018 г.

Методами лазерно-индуцированной флуоресценции и рамановской спектроскопии в рамках единой методики исследования ($\lambda = 514.5 \text{ nm}$) проведен анализ микрообластей пораженной кариесом ткани дентина зуба человека. Одновременный скрининг двумя методами микрообластей вблизи границы раздела между интактным и инфицированным дентином позволил наблюдать интенсивный отклик как в рамановском спектре, так и в области индуцированной флуоресценции. Анализ данных показал, что зарегистрированные методом рамановской спектроскопии колебательные моды относятся к аминокислотам ДНК/РНК кариесогенных бактерий и порфиринов, которые являются следствием их жизнедеятельности. Этот факт подтверждается данными лазерно-индуцированной флуоресценции. Обнаруженные спектральные особенности могут быть успешно использованы в стоматологии при диагностировании кариозных поражений разного уровня формирования.

DOI: 10.21883/OS.2018.11.46847.173-18

Введение

Прецизионная диагностика патологий органов ротовой полости неинвазивными оптическими методами является одной из актуальнейших задач современной терапевтической стоматологии [1]. Особенное значение на практике имеют методики диагностирования кариозных поражений разного уровня формирования как одной из самых распространенных форм патологий ротовой полости [1,2]. В литературе неоднократно была показана возможность использования лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ), рамановской и ИК спектроскопии, а также оптической томографии для анализа данного социально значимого заболевания [2–6]. Развитие спектроскопических методов в качестве инструмента диагностики различных форм кариеса дает возможность не только обнаружить начальные или остаточные кариесогенные факторы [1,5,7,8], картировать область поражения [9,10], но и наблюдать за динамикой кариеса и ходом его терапевтического лечения [11–13].

Преимущество вышеописанных методик скрининга кариозного процесса на ранних этапах его развития [5,8,14], а также контроля состояния эмали зуба и ротовой жидкости на стадиях, предшествующих кариесу [15–17], заключается в возможности идентифицировать и визуализировать информацию о характере заболевания [1,10,18]. Однако при глубоких формах кариозных поражений, затрагивающих дентин зуба, интерпретация

результатов с использованием указанных методов оптической спектроскопии затруднена [4,9,11,19]. Поэтому получение информации о дезорганизации нативного матрикса дентина вследствие развития кариозного процесса является предметом современных исследований, ставящих целью улучшение качества скрининга и упреждение развития вторичного кариеса [1,4,5,20].

Проблема получения информации о развитии кариеса в глубоких слоях зуба заключается в сложности разделения любого сигнала от множества составляющих [10,21,22]. Хорошо известно, что оптические характеристики интактных тканей (эмали, дентино-эмалевой границы и дентина) имеют разные спектральные особенности [10,18,23]. По сравнению с эмалью зуба в составе дентина содержится значительно больше органических веществ и имеется разветвленная сеть канальцев [24–26]. Поэтому процесс интерпретации полученных спектроскопических данных даже в случае здорового дентина крайне затруднителен. Развитие кариозного процесса и проникновение в ткани дентина микроорганизмов [27], как и взаимодействие продуктов их жизнедеятельности с нативной тканью зуба, еще более усложняют задачу по расшифровке полученной информации [28–30]. Поэтому определение степени деминерализации дентина, состава минеральных фаз в нем, идентификация продуктов жизнедеятельности патогенных бактерий и определение агентов естественной реакции дентина на кариозный

процесс является комплексной междисциплинарной задачей.

Оптимальным путем решения проблемы анализа тканей кариозного дентина с учетом глубины проникновения кариеса является получение информации из одной и той же области твердой ткани за счет единовременного анализа патогенного образования различными спектроскопическими методиками, взаимно дополняющими друг друга.

Одной из наиболее развитых технологий диагностики и мониторинга кариеса дентина является флуоресцентная спектроскопия [1,3,22,31]. Лазерно-индуцированная флуоресценция позволяет эффективно выявить области деминерализации, визуализировать и идентифицировать продукты бактериального происхождения [3,21,32,34]. В то же время не менее значимой и активно используемой технологией, которая привлекается для анализа молекулярного строения, наблюдения химических процессов и фазовых превращений в тканях зуба при развитии кариозного процесса, является рамановская спектроскопия [5,7,10,14,21,35,36].

Усовершенствование этих методов съемки, в частности применение геометрии микрозондирования, позволяет сфокусироваться на микрообластях естественной твердой ткани, что имеет большое значение при анализе микробиологических особенностей строения зубов человека [9,12,14,21]. Такой подход позволяет увеличить избирательность и чувствительность системы методов по отношению к начальным или остаточным патогенным и инфицированным областям, что значимо для клинического применения.

Комбинация метода ЛИФ и рамановской спектроскопии в рамках единой исследовательской установки, а также включение в измерительную схему оптического микроскопа и дальнейший анализ одновременно полученных данных позволят не только повысить эффективность скрининга развития кариеса дентина на микроуровне, но и установить возможные причины патогенных образований [21,37].

Обзор литературы по описанной проблеме показывает, что существует ограниченное число работ, посвященных экспериментальным исследованиям процессов формирования кариеса дентина, основанных на совместном анализе данных рамановской спектроскопии и ЛИФ [21,22,37,38]. Вероятно, это является следствием того факта, что реализация такого подхода, а также корректная интерпретация данных являются весьма сложной задачей. Как показывает обобщенный опыт ряда исследователей, качество получаемой информации даже в рамках одного из вышеописанных методов весьма сильно зависит от выбранных условий возбуждения флуоресценции/рамановского сигнала, таких как длина волны лазерного излучения, его мощность, включение в схему оптического микроскопа, получение спектров от микроучастков [32,33,39]. Поэтому целью нашей работы стало спектроскопическое исследование кариозного поражения и фазообразования с микроучастков тканей

дентина при единовременной регистрации ЛИФ и рамановской спектроскопии.

Материалы и методы исследования

Образцы зубов человека с кариозными поражениями дентина, удаленные у пациентов по ортодонтическим показаниям, а также при пародонтитах тяжелой степени, были подготовлены для исследования следующим образом. Вначале зубы промывали в проточной воде, очищали от зубного налета, поверхность высушивали фильтровальной бумагой. Далее на специализированной установке с использованием алмазного диска с водяным охлаждением были получены сегменты твердой ткани зуба с кариозными поражениями (рис. 1, *a, b*). Полученные таким образом образцы твердой ткани фиксировались с помощью акрилатного клея на стеклянную пластину и подвергали бережному шлифованию с последующей полировкой с использованием алмазного абразива. На рис. 1, *a* приведено изображение стандартного анализируемого образца, содержащего область пораженного кариесом дентина (рис. 1, *c*). Увеличенное в 500 раз изображение кариозной области представлено на рис. 1, *d*.

Спектры ЛИФ от различных анализируемых участков зуба, включая области здорового и пораженного кариесом дентина, были получены при комнатной температуре с использованием установки на основе монохроматора TRIAX550 и охлаждаемого жидким азотом CCD-детектора по стандартной методике [40]. Длина волны возбуждающего лазерного излучения составляла 514.5 nm. Для фокусировки на поверхности использовался 10х-объектив. Локальные изменения интенсивности флуоресценции поверхности образца были удачно проанализированы за счет наблюдения возбужденной флуоресценции через режекторные фильтры, встраиваемые в экспериментальную установку. Это позволило нам визуализировать области здоровой и кариозной эмали и дентина, имеющие различные интенсивности возбужденной флуоресценции.

Анализ молекулярных превращений в твердых тканях человеческого зуба при кариесе дентина был выполнен нами на основе данных рамановской спектроскопии, что позволило получить уникальную информацию о молекулярном строении твердой ткани зуба, в том числе при развитии кариозного процесса в ней. Рамановские спектры в геометрии обратного рассеяния были зарегистрированы при комнатной температуре от поверхности образцов по стандартной методике на той же самой установке, что и спектры ЛИФ [14]. В нашем исследовании измерительная схема рамановского спектрометра была дополнена оптическим микроскопом. Лазерный луч (514.5 nm) был сфокусирован на образце с использованием 50-кратного объектива микроскопа, который позволил локализовать пятно лазерного излучения на анализируемой области в

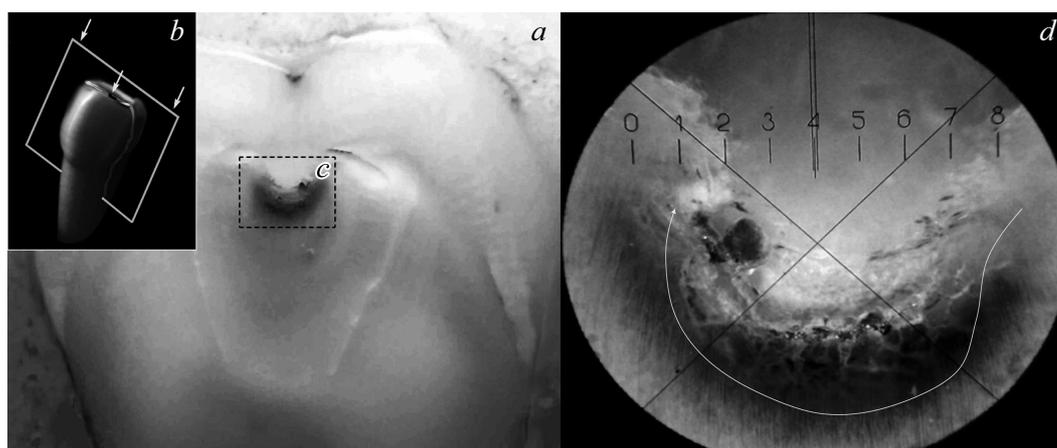


Рис. 1. *a* — подготовленный шлиф зуба, содержащий зону кариозного дентина, *b* — схематическое изображение кариозного дентина, стрелкой указана область скрининга границы между зоной кариозного дентина и зоной инфицированного разделения зуба на шлифы, *c* — область дентина с кариозным поражением, *d* — область дентина.

пределах $4\text{--}8\mu\text{m}^2$. Рассеянный свет от образца был собран и направлен на монохроматор, после чего детектировался ПЗС-матрицей (CCD-детектор). Мощность лазерного излучения составляла $\sim 30\text{ mW}$. Возбуждающее лазерное излучение не было поляризовано, рассеянный свет также был детектирован без поляризации.

Выбор возбуждающего лазера с длиной волны 514.5 nm обусловлен возможностью одновременного получения от одной микрообласти как спектров ЛИФ, так и рамановского сигнала. Отметим, что использование возбуждающего излучения с иной длиной волны либо не позволяет наблюдать сигнал рамановского рассеяния вследствие высокоинтенсивного фона флуоресценции у биоапатита, либо сильно влияет на сдвиг полос флуоресценции органической составляющей, появление которых в спектре также зависит от длины волны источника возбуждения [32,33,39,41].

Отметим, что полученные методами ЛИФ и рамановской спектроскопии спектры от идентичных зон всех исследованных образцов были усреднены. В дальнейшем на рисунках представлены именно усредненные спектры, полученные из различных точек идентичных зон всех образцов. Это сделано для того, чтобы исключить влияние шероховатости поверхности на полученные экспериментальные результаты, а также обнаружить лишь фактические различия в спектрах, обусловленные характерными механизмами развития кариозного процесса для различных людей.

Результаты и обсуждение

При исследовании области кариозного поражения сканирование лазерном пучком осуществлялось вдоль направления, указанного стрелкой на рис. 1, *d*, т. е. вдоль границы между зонами кариозного и инфицированного

дентина. Из рис. 1, *d*, полученного с увеличением 500 раз видно, что пораженная кариесом ткань дентина имеет неоднородную морфологию. Учитывая этот факт, для поиска границы инфицированного дентина мы проводили сканирование показанной области (рис. 1, *d*) до момента, когда в спектрах ЛИФ наблюдались лишь особенности, присущие здоровому дентину (спектр под номером 1 на рис. 2, *a*) и уже описанные в работах [3,22,39,40].

Детальное рассмотрение флуоресценции от различных областей кариозного дентина (рис. 2, *a*, спектры 2,3) обнаруживает, что в спектре кроме основных максимумов, соотносимых со здоровым (интактным) дентином (рис. 2, *b*, спектр 1), присутствует ряд дополнительных особенностей в „красной области“ спектра, энергетическое положение которых обозначено на рис. 2, *a, b* и представлено в табл. 1.

Анализ полученных нами результатов и сравнение их с уже известными литературными данными показывает, что появление особенностей в спектре флуоресценции в области $576, 628, 690, 716\text{ nm}$ соотносится с эмиссией от порфиринов — продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (вызывающих кариес бактерий) [10,22,32]. Известно, что при возбуждении флуоресценции лазером с длиной волны, лежащей в достаточно широком интервале ($405, 532, 630, 740\text{ nm}$), эмиссионные полосы порфиринов будут наблюдаться в красной области спектра и отличаться лишь положением основных максимумов [3,39,42,43]. Использование нами для возбуждения ЛИФ источника излучения с длиной волны 514.5 nm также привело к появлению эмиссионных полос флуорофоров бактерий и их продуктов в области от $500\text{--}750\text{ nm}$. В связи с этим становится понятно, что на форму полосы флуоресценции от микрообластей дентина будут преимущественно влиять процессы, связанные с развитием кариеса и уровнем его формирования в анализируемой области.

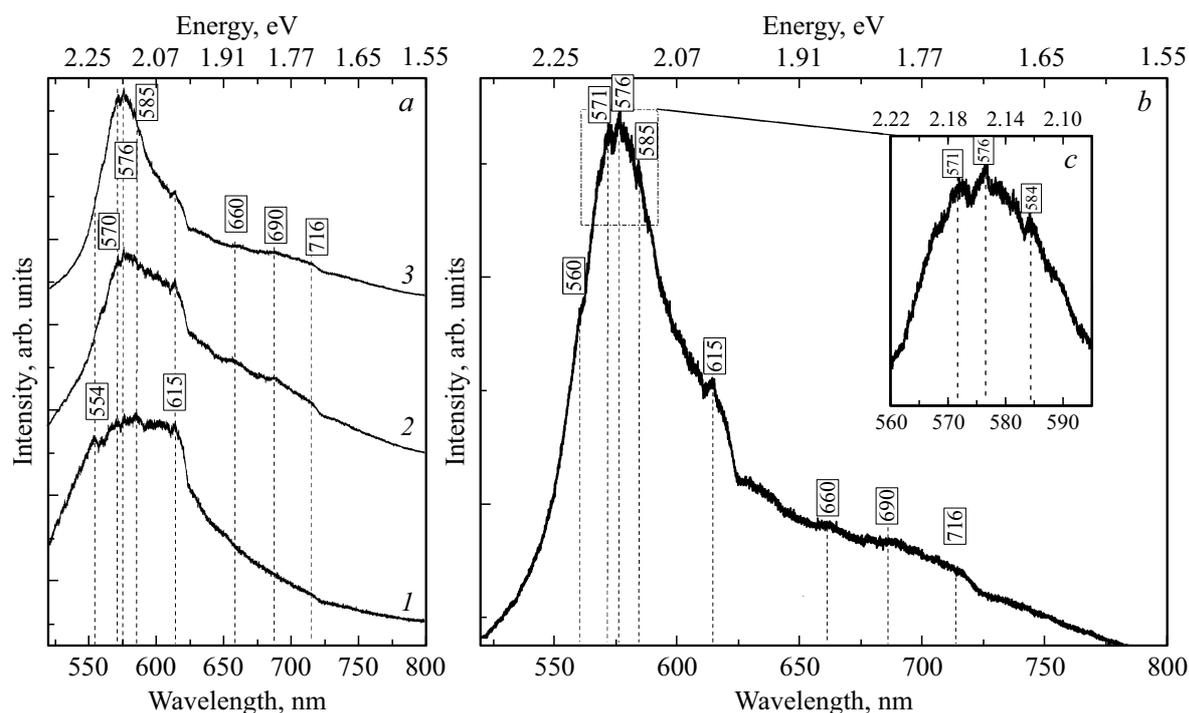


Рис. 2. Спектры ЛИФ, полученные при возбуждении лазером с $\lambda = 514.5$ nm: *a* — сопоставление спектров интактного (*1*) и инфицированного дентина (*2, 3*), *b* — спектр инфицированного дентина с указанием основных особенностей, *c* — форма основного максимума полосы флуоресценции инфицированного дентина.

Таблица 1. Положение максимумов флуоресценции (nm) в спектрах интактного и кариозного дентина при возбуждении источником с $\lambda = 514.5$ nm

Флуорофор	Экспериментальные данные			Литературные данные	
	интактный дентин	инфицированный область 1	инфицированный дентин, область 2	референтное значение	источник
Коллаген	554	554	554	560	[32,39]
Составляющие порфиринов	—	576	576	—	[22,37,42]
Коллаген, Составляющие порфиринов, Гидроксиапатит	615	615	615	618–620	[22,32,40]
Составляющие порфиринов	—	630–640	630–635	630	[22,32,37,42]
Бактерии и микроорганизмы	—	660	660	[22,32,37]	
Составляющие порфиринов	—	690	690	690	[22,32,37,42]
Бактерии и составляющие порфиринов	—	710–716	708–716	708–710	[22,32,37]

Перераспределение интенсивности максимумов флуоресценции в области 576, 660, 690, 716 nm, а также изменение формы края полосы флуоресценции в

области 520–550 nm (рис. 2, *a, b*) указывает не только на возрастание доли микроорганизмов в анализируемой области, но и на дезорганизацию ткани дентина, т.е.

Таблица 2. Частоты активных мод (cm^{-1}) в экспериментальных рамановских спектрах интактного и кариозного дентина при возбуждении источником с $\lambda = 514.5 \text{ nm}$

Принадлежность мод в рамановском спектре	Экспериментальные данные			Литературные данные	
	интактный дентин	инфицированный дентин, область 1	инфицированный дентин, область 2	референтное значение	источник
ГАП $\nu_2 \text{ PO}_4$	420	—	—	430–447	[10,11,14,21,35,36]
ГАП $\nu_2 2 \text{ PO}_4$	582	—	—	579–590	[10,11,14,21,35,36]
Микроорганизмы и порфирины, ДНК/РНК	—	763	763	760	[47,49,50,52]
Порфирины ДНК/РНК	—	783	783	785	[49–52]
ГАП PO_4 микроорганизмы	960	959	959	960–965	[10,11,14,21,35,36]
$\nu_3 \text{ PO}_4$	1045	—	—	1040–1047	[10,11,14,21,35,36]
$\nu_1 \text{ CO}_3 \text{ B-типе}$	1078	—	—	1070–1072	[10,14,35,36]
Микроорганизмы	—	1320	1320	1320	[29,46,47]
Порфирины и микроорганизмы	—	1335	1335	1335–1340	[21,47,52,53]

на изменения, происходящие в фазовом составе его органической и минеральной составляющей (рис. 2, *a*). В поддержку последнего утверждения свидетельствуют данные, полученные в ряде работ по исследованию как биогенного гидроксиапатита [3,32,40], так и синтетических образцов [44,45]. Следует отметить, что на рис. 2, *b* и вставке 2, *c* профиль полосы флуоресценции порфиринов отличается от того, что был описан в литературе [10,22,37]. Иное соотношение интенсивности основных максимумов (особенностей) в наших экспериментальных спектрах, по-видимому, связано со специфической, присущей данной микрообласти дентина, комбинацией различных порфиринов (рис. 2, *a*, спектры 2, 3). При этом также следует отметить, что спектры 2 и 3 на рис. 2, *a*, полученные с разных точек кариозного дентина, также имеют различный профиль полосы флуоресценции.

Отсутствие полос от флуорофоров бактерий и структур ДНК/РНК в спектрах ЛИФ кариозного дентина, на наш взгляд, вызвано выбором длины волны возбуждающего лазера — 514.5 nm. В подтверждение нашего предположения свидетельствуют данные из работы [32], в которой было показано, что для эффективного возбуждения интенсивных полос флуоресценции такого рода объектов необходимо использовать источник возбуждающего излучения с длиной волны из региона 360–440 nm.

Как уже было отмечено ранее, для анализа обнаруженных методом ЛИФ изменений в интактном и кариозном дентине мы также привлекли рамановскую спектроскопию, включенную в единую схему измерения. На рис. 3, *a, b* приведены спектры рамановского рассеяния, полученные от тех же самых участков интактного

дентина (рис. 3, *a, b*, спектр 1) и инфицированного дентина (рис. 3, *a, b*, спектры 2, 3), от которых были получены спектры ЛИФ. Частоты основных мод в рамановских спектрах обозначены на рис. 3, *b* и указаны в табл. 2. Отметим, что экспериментальный рамановский спектр от микрообластей интактного дентина (рис. 3, *a*, кривая 1) соответствует по своим спектральным особенностям уже известным литературным данным [10,11,21,23,35].

Отличительной особенностью спектров инфицированного дентина является появление в них дополнительных мод с частотами 763, 783, 960, 1320, 1330 cm^{-1} (рис. 3, *a, b*, спектры 2, 3). Как уже было показано в ряде работ, возникновение колебаний в рамановском спектре в области 730–800, 950–970, 1330–1340 cm^{-1} скорее всего связано с присутствием в образце клеточных структур/микроорганизмов, аминокислот и белков [21,36,41,47,50] и структур ДНК/РНК [36,49,51]. Высокая интенсивность моды колебаний в области 1330 cm^{-1} свидетельствует о присутствии в анализируемой области дентина продуктов жизнедеятельности бактерий — различных порфиринов и пентосидина [22,52,53]. Возможным местоположением микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности в дентине являются каналцы или области деминерализации, которые регистрировались методом оптической и растровой микроскопии [9,24,26].

Следует отметить, что в наших экспериментальных спектрах от инфицированного дентина высокоинтенсивные рамановские моды в областях 750–780 и 1320–1335 cm^{-1} (рис. 3, *a, b*, кривые 2, 3) имеют сдвиг относительно известных литературных данных по порфиринам [10,22,52,53]. Однако в соответствии с анализом эмиссионных профилей (рис. 2, *a, b*) этот факт

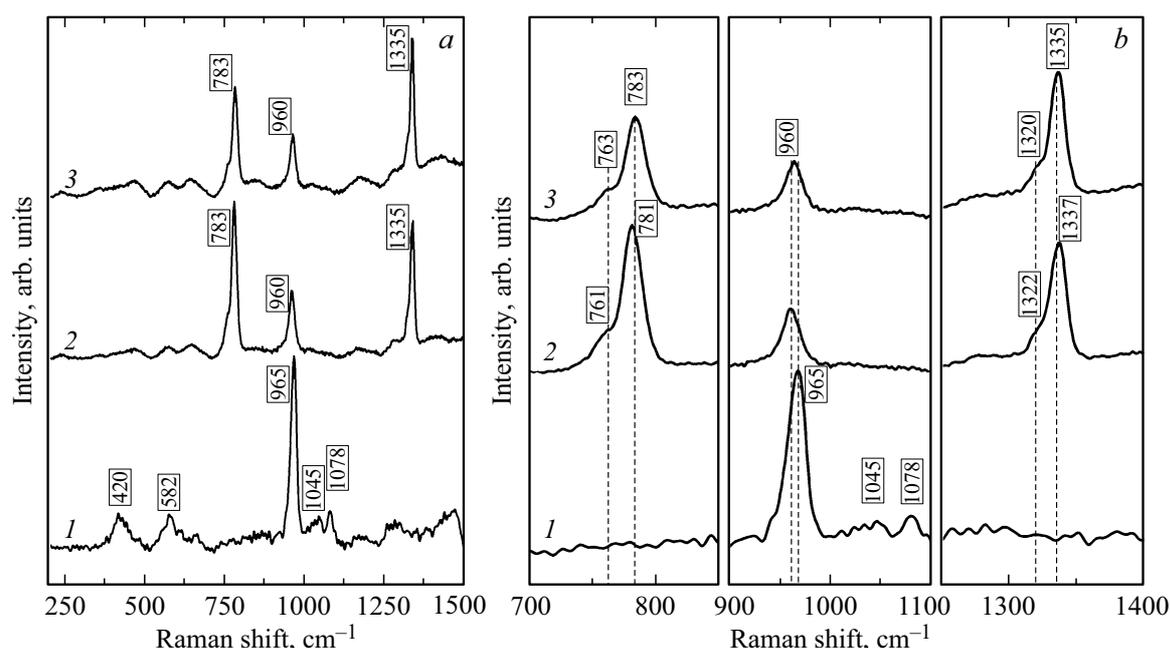


Рис. 3. Спектры рамановского рассеяния, полученные при возбуждении лазером с $\lambda = 514.5 \text{ nm}$ от интактного (1) и инфицированного дентина (2, 3): *a* — обзорные спектры образцов, *b* — области характеристических мод в рамановском спектре.

можно связать с малым количеством порфириновой составляющей в анализируемой области, иной композицией набора порфиринов и дезорганизацией структуры дентина [9]. Кроме того, с учетом глубины проникновения возбуждающего излучения ($\sim 300\text{--}400 \text{ nm}$) это сказывается на низкой интенсивности флуоресценции порфиринов и соответственно рамановского сигнала от них.

Хотим подчеркнуть, что сравнение полученных нами результатов с известными работами [21,22,37], посвященными скринингу начальных стадий развития кариеса эмали и дентина, в которых метод ЛИФ и рамановской спектроскопии использовались в единой схеме исследования, показывает, что лишь в нашей работе впервые удалось одновременно получить спектры флуоресценции и высокоинтенсивные спектры рамановского рассеяния с хорошим разрешением от микрообъема образцов кариозного дентина (рис. 3, *a, b*).

Заключение

Методами ЛИФ и рамановской спектроскопии в рамках единой методики исследования проведен анализ микрообластей тканей дентина, в том числе с кариозными поражениями.

Показано, что использование лазерного излучения с длиной волны 514.5 nm и включение в измерительную схему режекторного фильтра 515 nm позволяет наблюдать интенсивный отклик от микрообластей ткани зуба, пораженной кариесом как в области рамановского

рассеяния, так и в области, возбуждаемой при этом флуоресценции.

Сопоставление экспериментально полученных в нашей работе результатов с литературными данными показало, что возникающие высокоинтенсивные моды колебаний в рамановском спектре, а также появление энергетических особенностей в спектрах ЛИФ связано с присутствием в пораженных кариесом областях ткани дентина аминокислот ДНК/РНК кариесогенных бактерий, а также порфиринов как результата их жизнедеятельности.

Полученные в работе результаты потенциально значимы для разработки эффективных методов ранней и прецизионной диагностики патологий твердых тканей зубов человека, а выявленные спектральные особенности могут являться маркерами возможных патологий тканей дентина зуба человека.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-10046).

Список литературы

- [1] *Murupel A.M.* // *Lasers in Dentistry*. Current Concepts/Ed. by Coluzzi D.J., Parker S.P.A. Cham. Springer International Publishing, 2017. 400 p. doi 10.1007/978-3-319-51944-9_6
- [2] *Diniz M.B., Rodrigues J.A., Lussi A., Ming-Yu Li.* Traditional and Novel Caries Detection Methods, Contemporary Approach to Dental Caries. InTech, 2012. 128 p. doi 10.5772/38209
- [3] *Chen Q.G., Zhu H.H., Xu Y., Lin B., Chen H.* // *Laser Phys.* 2015. V. 25. P. 085601. doi 10.1088/1054-660X/25/8/085601

- [4] Liu Y, Yao X, Liu YW, Wang Y // Caries Res. 2014. V. 48. P. 320. doi 10.1159/000356868
- [5] Buchwald T, Okulus Z, Szybowicz M // J. Raman Spectrosc. 2017. V. 48. P. 1094. doi 10.1002/jrs.5175
- [6] Cheng R, Shao J, Gao X, Tao C, Ge J, Liu X // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 21798. doi 10.1038/srep21798
- [7] Cepeda-Pérez E, Moreno-Hernández C, López-Luke T, Monzón-Hernández D, Rosa E // Biomed. Phys. Eng. Express. 2016. V. 2. P. 065006. doi 10.1088/2057-1976/2/6/065006
- [8] Gomez J // BMC Oral Health. 2015. V. 15. P. S3. doi 10.1186/1472-6831-15-S1-S3
- [9] Wang Y, Yao X // Dent. Mater. 2010. V. 26. P. 433. doi 10.1016/j.dental.2010.01.002
- [10] Salehi H, Terrer E, Panayotov I, Levallois B, Jacquot B, Tassery H // J. Biophotonics. 2012. V. 6. P. 1. doi 10.1002/jbio.201200095
- [12] Toledano M, Cabello I, Vilchez M.A.C., Fernández M.A., Osorio R // Microsc. Microanal. 2014. V. 20. P. 245. doi 10.1017/S1431927613013639
- [12] Camerlingo C, d'Apuzzo F, Grassia V, Perillo L, Lepore M // Sensors. 2014. V. 14. P. 22552. doi 10.3390/s141222552
- [13] Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Ippolitov Y.A., Kalivradzhiyan E.S. // Russ. Open. Med. J. 2018. V. 7. P. e0106. doi 10.15275/rusomj.2018.0106
- [14] Seredin P, Goloshchapov D, Prutskij T, Ippolitov Y // PLoS ONE. 2015. V. 10. N 4. P. e0124008. doi 10.1371/journal.pone.0124008
- [15] Fujii S, Sato S, Fukuda K, Okinaga T, Ariyoshi W, Usui M // Anal. Sci. Int. J. Jpn. Soc. Anal. Chem. 2016. V. 32. P. 225. doi 10.2116/analsci.32.225
- [16] Seredin P, Goloshchapov D, Kashkarov V, Ippolitov Y, Bamberg K // Results. Phys. 2016. V. 6. P. 315. doi 10.1016/j.rinp.2016.06.005
- [17] Seredin P, Goloshchapov D, Ippolitov Y, Vongsvivut P // EPMA J. 2018. V. 9. P. 195. doi 10.1007/s13167-018-0135-9
- [18] Dusevich V, Xu C, Wang Y, Walker M.P., Gorski J.P. // Arch. Oral Biol. 2012. V. 57. P. 1585. doi 10.1016/j.archoralbio.2012.04.014
- [19] Almhöjd U.S., Norén J.G., Arvidsson A., Nilsson Å., Lingström P // Oral Health Dent. Manag. 2014. V. 13. P. 735. doi 10.4172/2247-2452.1000666
- [20] Maske T.T., Isolan C.P., Sande F.H., Peixoto A.C., Faria-e-Silva A.L., Cenci M.S. // Clin. Oral Investig. 2014. V. 19. P. 1047. doi 10.1007/s00784-014-1331-1
- [21] Almahdy A, Downey F.C., Sauro S, Cook R.J., Sherriff M, Richards D // Caries Res. 2012. V. 46. P. 432. doi 10.1159/000339487
- [22] Slimani A, Nouioua F, Panayotov I, Giraudeau N, Chiaki K, Shinji Y // Int. J. Exp. Dent. Sci. 2016. V. 5. P. 1. doi 10.5005/jp-journals-10029-1115
- [23] Alebrahim M.A., Krafft C, Popp J // IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. 2015. V. 92. P. 012014. doi 10.1088/1757-899X/92/1/012014
- [24] Xu C, Wang Y // Arch. Oral Biol. 2012. V. 57. P. 383. doi 10.1016/j.archoralbio.2011.09.008
- [25] Garcés-Ortiz M, Ledesma-Montes C, Reyes-Gasga J // J. Endod. 2015. V. 41. P. 1510. doi 10.1016/j.joen.2015.02.026
- [26] Giacaman R.A., Perez V.A., Carrera C.A. Mineralization processes in hard tissues. Biomineralization and Biomaterials, Elsevier. 2016. 185 p. doi 10.1016/B978-1-78242-338-6.00006-5
- [27] Rôas I.N., Alves F.R.F., Rachid C.T.C.C., Lima K.C., Assunção I.V., Gomes P.N. // PLoS ONE. 2016. V. 11. N 5. P. e0154653. doi 10.1371/journal.pone.0154653
- [28] Duckworth R.M. The Teeth and Their Environment: Physical, Chemical and Biochemical Influences. Karger Medical and Scientific Publishers, 2006.
- [29] Beier B.D., Quivey R.G., Berger A.J. // AMB Express. 2012. V. 2. P. 35. doi 10.1186/2191-0855-2-35
- [30] Tanner A.C., Kressirer C, Faller L, Lake K, Dewhirst F, Kokarab A // J. Oral Microbiol. 2017. V. 9. P. 1325194. doi 10.1080/20002297.2017.1325194
- [31] Yin W, Feng Y, Hu D-Y, Ellwood R.P., Pretty I.A. // West China J. Stomatol. 2010. V. 28. P. 278.
- [32] Bachmann L, Zzell D.M., Ribeiro A. da C., Gomes L, Ito A.S. // Appl. Spectrosc. Rev. 2006. V. 41. P. 575. doi 10.1080/05704920600929498
- [33] Zhang L, Nelson L.Y., Seibel E.J. // J. Biomed. Opt. 2011. V. 16. P. 071411. doi 10.1117/1.3606572
- [34] Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Gushchin M.S., Ippolitov Y.A., Prutskij T // J. Phys. Conf. Ser. 2017. V. 917. P. 042019. doi 10.1088/1742-6596/917/4/042019
- [35] Xu C, Karan K, Yao X, Wang Y // J. Raman Spectrosc. 2009. V. 40. P. 1780. doi 10.1002/jrs.2320
- [36] Movasaghi Z, Rehman S, Rehman I.U. // Appl. Spectrosc. Rev. 2007. V. 42. P. 493. doi 10.1080/05704920701551530
- [37] Levallois B, Terrer E, Panayotov Y, Salehi H, Tassery H, Tramini P // Eur. J. Oral. Sci. 2012. V. 120. P. 444. doi 10.1111/j.1600-0722.2012.00988.x
- [38] Nakamura S, Ando M, Hamaguchi H, Yamamoto M // Lasers. Med. Sci. 2017. V. 32. P. 1857. doi 10.1007/s10103-017-2291-x
- [39] Ribeiro Figueiredo A.C., Kurachi C, Bagnato V.S. // Caries Res. 2005. V. 39. P. 393. doi 10.1159/000086846
- [40] Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Prutskij T, Ippolitov Y.A. // Results Phys. 2017. V. 7. P. 1086. doi 10.1016/j.rinp.2017.02.025
- [41] Rygula A, Majzner K, Marzec K.M., Kaczor A, Ptlarczyk M, Baranska M // J. Raman Spectrosc. 2013. V. 44. P. 1061. doi 10.1002/jrs.4335
- [42] Shakibaie F, George R, Walsh L.J. // Int. J. Dent. Clin. 2011. V. 3. P. 38.
- [43] Matošević D, Tarle Z, Miljanić S, Meić Z, Pichler L, Pichler G // Acta. Stomatol. Croat. 2010. V. 44. P. 82.
- [44] Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M., Ippolitov Y.A., Prutskij T // Results Phys. 2016. V. 6. P. 447. doi 10.1016/j.rinp.2016.08.003
- [45] Голощапов Д.Л., Середин П.В., Минаков Д.А., Домашевская Э.П. // Опт. и спектр. 2018. Т. 124. С. 191. doi 10.21883/OS.2018.02.45522.188-17; Goloshchapov D.L., Seredin P.V., Minakov D.A., Domashevskaya E.P. // Opt. Spectrosc. 2018. V. 124. P. 187. doi 10.1134/S0030400X18020066
- [46] Mosier-Boss P.A. // Biosensors. 2017. V. 7. P. 51. doi 10.3390/bios7040051
- [47] Liu T.T., Lin Y.H., Hung C.S., Liu T.J., Chen Y, Huang Y.C. // PLOS ONE. 2009. V. 4. P. e5470. doi 10.1371/journal.pone.0005470

- [48] Zeiri L., Bronk B.V., Shabtai Y., Eichler J., Efrima S. // *Appl. Spectrosc.* 2004. V. 58. P. 33.
- [49] Candeloro P., Grande E., Raimondo R., Mascolo D.D., Gentile F., Coluccio M.L. // *Analyst.* 2013. V. 138. P. 7331. doi 10.1039/C3AN01665J
- [50] Zhu G., Zhu X., Fan Q., Wan X. // *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 2011. V. 78. P. 1187. doi 10.1016/j.saa.2010.12.079
- [51] Madzharova F., Heiner Z., Gühlke M., Kneipp J. // *J. Phys. Chem. C.* 2016. V. 120. P. 15415. doi 10.1021/acs.jpcc.6b02753
- [52] Sarkar M., Verma A.L. // *J. Raman Spectrosc.* 1986. V. 17. P. 407. doi 10.1002/jrs.1250170506
- [53] Aydin M., Akins D.L. *Infrared and Raman Spectroscopic Characterization of Porphyrin and its Derivatives, Applications of Molecular Spectroscopy to Current Research in the Chemical and Biological Sciences* Mark Stauffer. IntechOpen, 2016. 162 p. doi 10.5772/64582.