

**Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»**

На правах рукописи

**Золотарева Юлия Олеговна**

**ЛАЗЕРНО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
НАНОЧАСТИЦ ФТАЛОЦИАНИНА АЛЮМИНИЯ ДЛЯ  
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СТОМАТОЛОГИИ**

01.04.21 – Лазерная физика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико – математических наук

Автор:



Москва – 2019



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы диссертации

По данным всемирной организации здравоохранения кариес зубов затрагивает примерно 60-90% школьников и почти 100% взрослых людей во всем мире [1]. Ранняя диагностика заболевания и своевременное лечение позволит не только сохранить здоровье зубов на долгие годы, но и повысить качество жизни. В последние десятилетия ведется активная работа по внедрению лазерного оборудования для исследования биологических объектов и для использования в практической медицине. И стоматология, в этом плане, не стала исключением.

По сравнению с традиционными методами диагностики (визуальный осмотр, зондирование, рентгенологический и ряд оптических методов) лазерная флуоресцентная спектроскопия является точным, простым в использовании и бюджетным методом диагностики раннего кариеса и различных повреждений зубной эмали.

Лазерная флуоресцентная спектроскопия также является эффективным диагностическим инструментом, поскольку он представляет собой неинвазивный, неразрушающий метод мониторинга в реальном времени, который позволяет диагностировать зубной камень [2], кариес [3] и воспалительные процессы тканей пародонта. Для проведения флуоресцентной диагностики (ФД) эмали в видимом диапазоне спектра необходимо достаточное количество порфиринов, которые являются продуктом жизнедеятельности бактерий, скапливающихся в местах повреждения эмали кариесом, в микротрещинах или находящихся на поверхности зубного камня [4]. На ранних этапах развития кариеса аутофлуоресценция патогенной микрофлоры выражена слабо, что затрудняет проведение ФД эмали.

Для улучшения метода ФД эмали и увеличения точности было предложено использовать наночастицы фталоцианина алюминия (НЧ AlPc) для выявления патогенной микрофлоры, локализуемой в микроповреждениях зубной эмали [5], а для сокращения продолжительности диагностики и увеличения эффективности в качестве дополнительного активатора НЧ AlPc в рамках данной работы было предложено использование поверхностно - активного вещества (ПАВ). Использование НЧ AlPc для диагностики возможно благодаря тому, что НЧ водонерастворимого AlPc приобретают флуоресцентные свойства только при контакте с патогенной микрофлорой.

Таким образом, целью диссертационной работы является разработка метода лазерно-индуцированной флуоресцентной диагностики микроповреждений зубной эмали с использованием модельной смеси (с НЧ AlPc и ПАВ) и низкоинтенсивного лазерного излучения, которые позволили бы выявлять микроповреждений эмали на самых ранних этапах.

## Цели и задачи диссертационной работы

**Целью** настоящей работы является разработка метода лазерно-индуцированной флуоресцентной диагностики микроповреждений зубной эмали с использованием модельной смеси (с НЧ AlPc и ПАВ) и низкоинтенсивного лазерного излучения.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. приготовить коллоидный раствор НЧ AlPc;
2. разработать метод контроля концентрации и размеров частиц в коллоиде;
3. подобрать оптимальное поверхностно-активное вещество (ПАВ) с точки зрения безопасности для здоровья и флуоресцентно – спектроскопических характеристик для дополнительной активации НЧ AlPc;
4. подобрать вспомогательные компоненты, необходимые для приготовления модельной смеси, которые не вызывали бы дополнительной флуоресценции НЧ AlPc;
5. подобрать оптимальное соотношение между тремя классами компонент модельного состава: вспомогательные вещества, ПАВ и коллоид НЧ AlPc;
6. приготовить модельную смесь, содержащую выбранный ПАВ, коллоид НЧ AlPc и вспомогательные компоненты, которая отвечала бы спектроскопическим, химическим и микробиологическим показателям, необходимым для проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов;
7. провести анализ спектрально-флуоресцентных характеристик модельной смеси *ex vivo*;
8. провести экспериментальное исследование взаимодействия разработанной модельной смеси с эмалью зубов *ex vivo*;
9. разработать метод лазерно – индуцированной ФД эмали зубов;
10. оценить эффективность проведения лазерно-индуцированной ФД с использованием модельной смеси, используя статистический анализ полученных результатов.

## Научная новизна

1. Предложен и реализован метод лазерно-индуцированной ФД микроповреждений зубной эмали с использованием модельной смеси с НЧ AlPc и низкоинтенсивного лазерного излучения;
2. Создан уникальный состав модельной смеси с НЧ AlPc для проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов, отвечающий спектроскопическим и химическим показателям;
3. Выявлен сдвиг спектра флуоресценции фталоцианина алюминия при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия на 15 нм в длинноволновую область спектра относительно других исследуемых ПАВ;
4. Показано, что применение ПАВ для дополнительной активации НЧ AlPc в модельной смеси позволяет увеличить эффективность проведения

лазерно-индуцированной ФД эмали и сократить время проведения процедуры в целом;

5. Показано, что при взаимодействии коллоида НЧ AlP с различными ПАВ в начальные моменты времени во взаимодействие вступают наиболее мелкие наночастицы и молекулы AlP в составе коллоида, а по истечении времени вклад в интенсивность флуоресценции начинают вносить молекулы, отделившиеся от более крупных частиц;

6. Оптимальной концентрацией протелана для дополнительной активации НЧ AlPc в составе модельной смеси является 1% по объему.

### **Научная и практическая значимость**

Результаты, изложенные в диссертационной работе, могут быть использованы для создания новых методов и средств неинвазивной оптической диагностики кариеса на ранней стадии развития заболевания.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Предложенный метод лазерно-индуцированной ФД эмали зубов с использованием разработанной модельной смеси с НЧ AlPc эффективен для лазерно-индуцированной ФД зубной эмали;

2. Использование протелана для дополнительной активации НЧ AlPc в модельной смеси позволяет увеличить эффективность проведения лазерно - индуцированной ФД: снизить концентрацию НЧ AlPc до 10 мг/кг и сократить время проведения процедуры до 3 мин;

3. Феномен сдвига спектра флуоресценции фталоцианина алюминия при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия на 15 нм в длинноволновую область спектра относительно других исследуемых ПАВ.

4. 4. Оптимальная концентрация протелана для дополнительной активации НЧ AlPc в составе модельной смеси является 1% по объему.

### **Апробация работы и публикации**

Автором работы было опубликовано 29 научных работ, в том числе 13 работ в изданиях, включённых в Перечень ВАК и системы цитирования Web of Science и Scopus, а также 16 работ в сборниках трудов конференций.

### **Участие в конференциях**

Материалы диссертации были представлены на международных и всероссийских конференциях:

1. X Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, 2012

2. Современные проблемы физики и технологий (НИЯУ МИФИ, Москва, Россия), 2013

3. XVI Международная конференция «Laser Optics 2014» (Санкт-Петербург, Россия)

4. II Всероссийская конференция с международным участием «Актуальные вопросы фотодинамической терапии и фотодиагностики», 2013
5. XI Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, 2013
6. IV всероссийская конференция «Актуальные вопросы фотодинамической терапии и фотодиагностики», Санкт-Петербург, 2015
7. European Conferences on Biomedical Optics, 2015 (Munich, Germany)
8. V Международная конференция по фотонике и информационной оптике 2016 (НИЯУ МИФИ, Москва, Россия)
9. V Всероссийская конференция "Фотодинамическая терапия и фотодиагностика" 2016 (Москва, Россия)
10. The International Conference on Lasers, Applications and Technologies (LAT2016) (Минск, Беларусь)
11. Первый Российский Кристаллографический Конгресс 2016 (Москва, Россия)
12. VI Всероссийская конференция с международным участием "Фотодинамическая терапия и фотодиагностика" 2017 (Ростов-на-Дону, Россия)
13. II International Symposium on «Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine» 2017 (НИЯУ МИФИ, Москва, Россия)
14. 9th International Medical Congress Laser Florence 2017 Laser Light and Drug (Флоренция, Италия)
15. XVIII Международная конференция «Laser Optics 2018» (Санкт-Петербург, Россия)

### **Личный вклад автора**

Все выносимые на защиту результаты и положения диссертационной работы получены и разработаны автором лично, либо при его непосредственном участии. Автор участвовал в постановке задач исследований, проведении, обработке и публикации экспериментальных исследований, представленных в диссертации.

### **Достижения и награды**

1. Первое место в стендовой секции среди студентов на X Всероссийском молодежном Самарском конкурсе-конференции научных работ по оптике и лазерной физике (7-11 ноября 2012).
2. Второе место в устной секции среди студентов на XI Всероссийском молодежном Самарском конкурсе-конференции научных работ по оптике и лазерной физике (6-10 ноября 2013).
3. Стипендия Президента РФ на 2016-2017 уч. год. (Приказ МОН 1138 от 5.09.2016 (аспиранты))
4. Победитель ежегодного молодёжного конкурса научных работ 2016 года по современным проблемам физики и технологий, проводимого в рамках Басовских чтений ФИАН-МИФИ - 2016, на тему: «Исследование

флуоресцентных свойств наночастиц фталоцианина алюминия для клинического применения в стоматологии». ФИАН, Москва

5. Участие в Первой Летней Школе «Физика и технологии в науках о жизни» 2017 (НИЯУ МИФИ, Москва, Россия), сертификат участника.

### **Стажировки и участие в проектах**

1. В 2013-2014 годах прошла научную стажировку в Лазерной Исследовательской лаборатории при центре (Life Center), который относится к Университету Людвиг-Максимилиана в Мюнхене в рамках проекта "Light4LIFE". Проект "Light4LIFE - Marketing für Deutschland als Innovationszentrum für Biophotonik" был запущен в рамках двустороннего сотрудничества между университетами России и Германии, как часть инновационной инициативы Федерального министерства образования и науки Германии.

2. Проект с Роснано (2014-2015) на тему: “Разработка образовательной программы повышения квалификации и учебно-методического комплекса в области флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии для лечения онкологических заболеваний”, роль в проекте – исполнитель.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, библиографии и трех приложений со списками публикаций и тезисов с участием автора, а также экспериментальными данными. Общий объем научно-квалификационной работы (диссертации) – 143 страницы, включая 40 рисунков и 4 таблицы. Библиография включает 114 наименований на 12 страницах.

### **Содержание работы**

Во Введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи работы, аргументирована научная новизна исследований, показана практическая значимость полученных результатов, представлены выносимые на защиту научные положения.

В главе 1 в первом пункте рассмотрено строение и оптические свойства твердых тканей зуба, а также особенности распространения лазерного излучения в твердых тканях зуба.

Во втором пункте дается описание физических основ флуоресцентной спектроскопии, а также описание использования аутофлуоресцентного анализа для исследования биологических объектов. Однако естественные флуоресцентные свойства многих биологических объектов выражены слабо и часто не позволяют проводить флуоресцентную диагностику с достаточной достоверностью. В таких случаях необходимо использование экзогенных флуорофоров, которые могут быть природными или искусственно синтезированными и имеют лучшие флуоресцентные характеристики.

Для оценки концентрации флуорофоров в тканях может быть использован комбинированный спектроскопический метод, который основан на измерении

спектра излучения, подвергшегося в тканях обратному диффузному отражению. Таким образом, полученный результирующий сигнал содержит в себе информацию и о рассеивающих центрах, и о хромофорах и флуорофорах, содержащихся в ткани. В качестве экзогенных маркеров могут быть использованы фотосенсибилизаторы, которые разрешены к применению в клинической практике.

В третьем пункте дается краткое описание кариозного процесса с оптической и физиологической точек зрения. С точки зрения тканевой оптики, можно рассматривать кариес как процесс, состоящий из двух разных явлений: разрушение ткани (демнерализация) и развитие бактериальной микрофлоры в области поражения эмали, с последующим ростом продуктов ее метаболизма [6]. С развитием кариесогенного процесса в твердой ткани зуба происходит постепенное увеличение коэффициента рассеяния пораженной области эмали, глубина проникновения лазерного излучения уменьшается, что приводит к смещению длины волны флуоресценции в красную область спектра. В следующем подпункте освещено состояние вопроса по применению различных методов, в том числе и оптических, для ранней диагностики микроповреждений эмали, раннего кариеса, очагов скопления патогенной микрофлоры, а также скрытого зубного камня и налета.

Среди новых разрабатываемых методов диагностики особое место занимает лазерная флуоресцентная спектроскопия с использованием низкоинтенсивного лазерного воздействия. Краткий обзор современных лазерных источников излучения, которые используются для диагностики различных заболеваний полости рта, позволяет оценить общую картину использования лазерных технологий в стоматологии.

В четвертом пункте дается описание основных свойств фталоцианинов и НЧ АІРС и возможности их использования для проведения лазерно - индуцированной ФД зубной эмали. Дается сравнительная характеристика водонерастворимой и водорастворимой форм АІРС. На рисунке 1 приведены изображения молекулярной и коллоидной формы АІРС в видимом свете (а) и при облучении светом в красном диапазоне спектра (б). На рисунке 1 (в) представлены спектры поглощения и флуоресценции обеих форм АІРС. Для детектирования структурных изменений и патогенной микрофлоры на ряду с использованием лазерного излучения в 2007 году было предложено использовать НЧ АІРС в качестве маркера для выявления патогенной микрофлоры, локализующейся в микроповреждениях зубной эмали. По результатам исследования было обнаружено, что за 5 суток флуоресценция в области микроповреждения увеличилась в 7,4 раза, а в неповрежденном участке эмали – в 1,7 раза. Концентрация НЧ АІРС в этом исследовании составляла 100 мг/л [7].



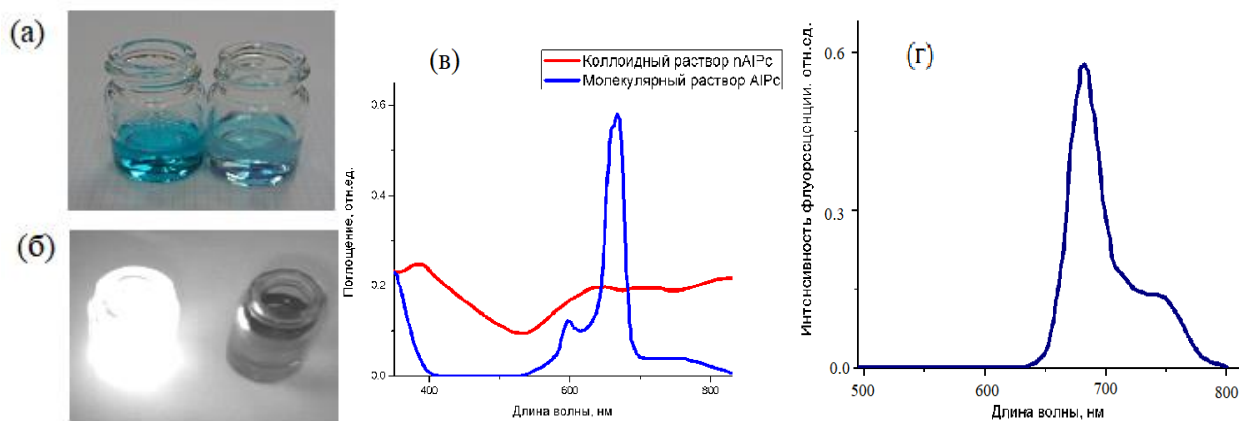


Рисунок 1: Молекулярный раствор AlPc и коллоидный раствор НЧ AlPc: (а) изображение в видимом диапазоне и (б) при облучении в красном диапазоне; (в) спектры поглощения коллоидного раствора НЧ AlPc и молекулярного раствора AlPc, (г) спектр флуоресценции молекулярного раствора AlPc.

Использование НЧ AlPc в качестве маркера обусловлено тем, что в водной среде НЧ AlPc не являются флуоресцентными и фотоактивными [8]. Для возникновения флуоресценции необходимо, чтобы молекулы фталоцианина отделились от поверхности частицы или находились в частично связанном состоянии, что обычно происходит в присутствии растворителя или специфического окружения (бактерии, макрофаги и др.). Механизм возникновения флуоресценции НЧ AlPc до конца не изучен, но предварительно может быть описан при помощи модели, предполагающей переход молекул на поверхности наночастицы из пара- в ортоположение [8].

Патентные исследования были выполнены для обоснования целесообразности создания специальной модельной смеси, которая может быть использована в качестве зубной пасты, для проведения лазерно-индуцированной ФД зубной эмали. Объектом патентного поиска являлись лечебно-профилактические зубные пасты с наночастицами, которые позволили бы проведение ФД и фотодинамической терапии (ФДТ) состояния эмали зубов, основанной на возникновении флуоресцентных свойств наночастиц при взаимодействии с патогенной микрофлорой. Патентный поиск показал, что содержащих в своем составе НЧ AlPc зубных паст нет. Также в ходе поиска не было обнаружено данных о зубных пастах с наночастицами, которые одновременно имели бы и флуоресцентные, и бактерицидные свойства. Таким образом, разработка модельной смеси, которая может быть использована в качестве зубной пасты, содержащей в своем составе НЧ AlPc и ПАВ для дополнительной активации НЧ AlPc, является обоснованной. Первая глава заканчивается постановкой цели и задач работы.

Глава 2 посвящена лазерно-спектроскопическому исследованию оптических свойств коллоидного раствора НЧ AlPc при взаимодействии с поверхностью зубной эмали *ex vivo* и с различными компонентами модельной смеси в зависимости от времени.

В материалах и методах изложен алгоритм приготовления коллоидного раствора из крупнодисперсных кристаллов фталоцианина алюминия производства ФГУП «ГНЦ НИОПИК» (Россия), а также методы контроля концентрации и размеров НЧ АІРс. Было получено, что 97% НЧ АІРс имеют гидродинамический радиус  $140 \pm 36$  нм и 3% частиц  $9 \pm 2$  нм.

Для приготовления модельной смеси необходимо подобрать дополнительный активатор из класса поверхностно-активных веществ (ПАВ) и проверить остальные компоненты смеси на отсутствие свойств, которые вызывали бы флуоресценцию НЧ АІРс. С этой целью были приготовлены экспериментальные образцы для исследования взаимодействия коллоида НЧ АІРс с различными вспомогательными компонентами модельной смеси: метилпарабен, карбопол, карбоксилметилцеллюлоза, диоксид титана, Na фосфорнокислый, Na сахарин, Сорбитол и ряд ПАВ: натрий лаурилэтоксисульфат, плантекар, протелан, которые обычно используются при изготовлении зубных паст.

Для исследования возможности использования различных ПАВ в качестве дополнительных активаторов НЧ АІРс были приготовлены экспериментальные образцы: ПАВ (0.5-2%) и коллоидный раствор НЧ АІРс (10 мг/л). ПАВ обычно используются в зубных пастах в качестве пенообразователя и, в том числе, для увеличения потребительских качеств. При сохранении пенообразующих свойств ПАВ необходимо подобрать тип и концентрацию вещества, которое вызывало бы умеренную флуоресценцию молекул НЧ. В качестве дополнительных активаторов наночастиц были исследованы: 80 (Tween 80), пропиленгликоль (Propyleneglycol), протелан (Protelan MST-35), плантекар (Plantacare 1200 UP, Lauryl Glucoside) и лаурилэтоксисульфат натрия (sodium laurylethoxysulfate). Выбранные ПАВ разрешены к применению в зубных пастах, используются для увеличения биодоступности и адресной доставки лекарств или используется в пищевой промышленности. В качестве контрольного образца использовался водный коллоидный раствор НЧ АІРс в концентрации 10 мг/л без добавок. Далее дается описание метода приготовления модельной смеси, содержащей НЧ АІРс (10 мг/л), протелан (1 %) и вспомогательные компоненты. Завершается глава описанием экспериментальных установок, которые были использованы для возбуждения флуоресценции, регистрации и анализа флуоресцентного сигнала, а также измерения времени жизни флуоресценции в экспериментальных образцах.

Во втором пункте главы приведены результаты лазерно-спектроскопического исследования оптических свойств НЧ АІРс при взаимодействии с различными вспомогательными компонентами модельной смеси и ПАВ. Также дается описание оптических и химико-физических свойств модельной смеси. На рисунке 2 представлены спектры флуоресценции коллоида НЧ АІРс при взаимодействии с вспомогательными компонентами модельной смеси, полученные сразу после приготовления образцов (а) и спустя 6 месяцев (б). Как видно из графиков, интенсивность флуоресценции НЧ АІРс выше тогда, когда измерения проводились сразу после приготовления образцов.

Значительное снижение флуоресценции НЧ АІРс спустя 6 месяцев может быть связано с тем, что со временем НЧ АІРс начинают образовывать агломераты, выпадать в осадок и терять свои флуоресцентные свойства. Вероятно, по этой же причине происходят изменения и в форме полученных спектров. На рисунке 2 (б) отсутствуют спектры флуоресценции НЧ АІРс при взаимодействии с такими веществами как карбопол, натрий фосфорнокислый и протелан.

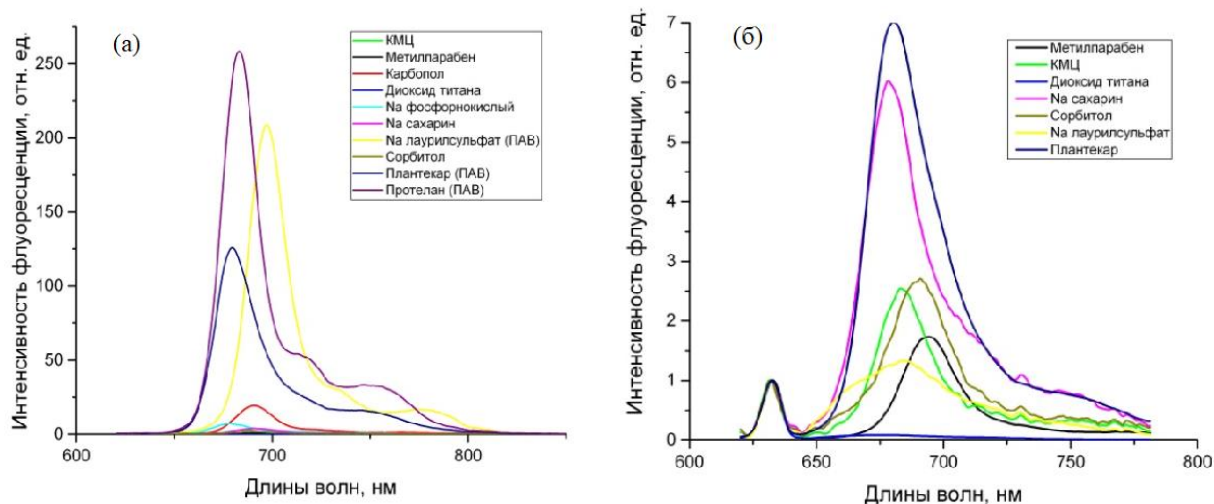


Рисунок 2. Спектры флуоресценции НЧ АІРс при взаимодействии с компонентами смеси, полученные сразу после приготовления образцов (а) и спустя 6 месяцев (б).

Данные не представлены, так как невозможно корректно измерить их спектры из-за сильного зашкала интенсивности флуоресценции. Необходимо отметить, что карбопол и натрий фосфорнокислый в эксперименте, проведенном сразу после приготовления образцов, по сравнению с другими веществами, не вступали во взаимодействие с НЧ АІРс, вызывая их флуоресценцию. Такое поведение веществ может быть объяснено тем, что для вступления во взаимодействие с НЧ АІРс, этим веществам необходимо некоторое время. На основе вспомогательных компонентов (за исключением ПАВ) был приготовлен базовый состав модельной смеси.

Для контроля доли активированных НЧ АІРс в водном растворе при взаимодействии с ПАВ и в модельной смеси была построена калибровочная кривая на основе экспериментальных данных, полученных при взаимодействии органического растворителя диметилсульфоксида (ДМСО) [9] с коллоидным раствором НЧ АІРс и модельной смесью. Было получено, что при концентрации коллоида НЧ АІРс 10 мг/л при 100% их растворимости (полном переходе в молекулярную форму) в ДМСО интенсивности флуоресценции составляет 1700 отн. ед. Таким образом, зная концентрацию НЧ АІРс в экспериментальном образце и используя калибровочную кривую, можно определить долю активированных НЧ АІРс (перешедших в молекулярную форму) как отношение интенсивности флуоресценции НЧ АІРс в растворе к интенсивности флуоресценции НЧ АІРс в ДМСО.

В ходе эксперимента было получено, что пропиленгликоль не вступает во взаимодействие с НЧ АІРС и не вызывает флуоресценции НЧ АІРС на всем временном промежутке 1 мин - 7 суток.

Результаты исследования взаимодействия коллоида НЧ АІРС в зависимости от времени при взаимодействии с твин-80 в различных концентрациях представлены на рисунке 3 (а). Из графиков видно, что рост флуоресценции НЧ АІРС наблюдается практически на всех временных промежутках при взаимодействии с твин-80 вплоть до 4 дней. Максимальная доля активированных молекул, находящихся на поверхности НЧ АІРС, варьируется в диапазоне от 6 до 8% от их общего расчетного количества.

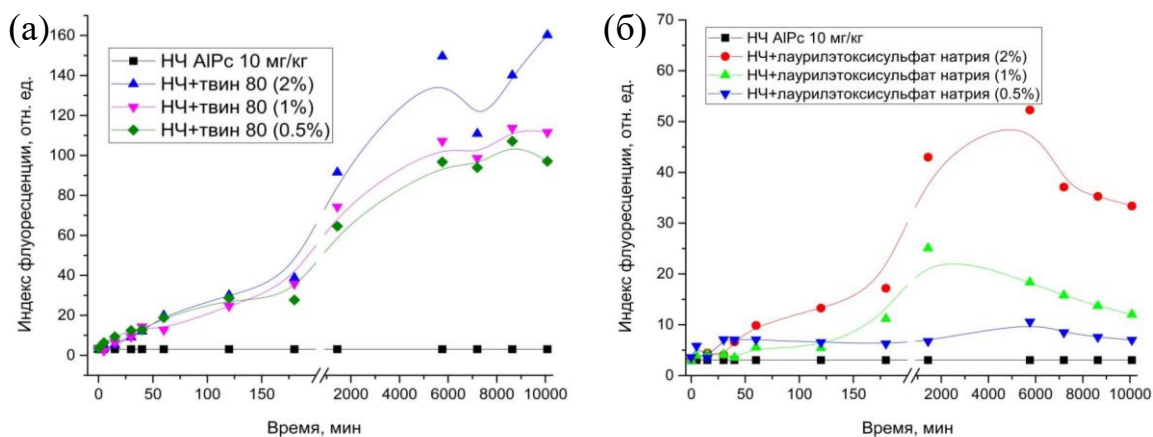


Рисунок 3: (а) график зависимости индекса флуоресценции наночастиц АІРС от времени при взаимодействии с твин-80 в концентрациях 0,5 - 2%; (б) график зависимости индекса флуоресценции НЧ АІРС от времени при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия в концентрациях 0,5 - 2%.

Исследование взаимодействия наночастиц АІРС при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия, что при концентрациях 1 и 2% в образце ПАВ вызывает рост флуоресценции НЧ АІРС вплоть до 3-4 суток, потом НЧ АІРС начинают выпадать в осадок и флуоресценция снижается (Рис. 3 (б)). Относительно невысокую флуоресценцию НЧ АІРС можно наблюдать при концентрации лаурилэтоксисульфата натрия 0.5%. Доля активированных молекул НЧ АІРС варьируется в диапазонах от 1 до 4%.

При взаимодействии НЧ АІРС с протеланом при концентрациях 0,5 и 1% наблюдается сильное увеличение максимума интенсивности флуоресценции на 6 сутки с момента приготовления образцов, а при концентрации 2% - на 4 сутки (Рис. 4 (а)). Как химическое вещество протелан характеризуется высокой пенообразующей способностью, используется в производстве средств по уходу за полостью рта, не наносит вред организму и окружающей среде. Также он легко биоразлагается и одобрен Cosmos стандартом [10]. Максимальная доля активированных молекул, находящихся на поверхности НЧ АІРС, варьируется в диапазоне от 6 до 8%. Спектроскопические исследования модельной смеси с НЧ АІРС и протеланом показали эффективность использования этого ПАВ для дополнительной активации НЧ АІРС. Добавление протелана в модельную смесь для проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов активирует не более

1-5 % молекул НЧ АІРС. При взаимодействии с НЧ АІРС с палантекаром возникает их флуоресценция, увеличение которой сохраняется до 3-6 дней в зависимости от концентрации (Рис. 4 (б)).

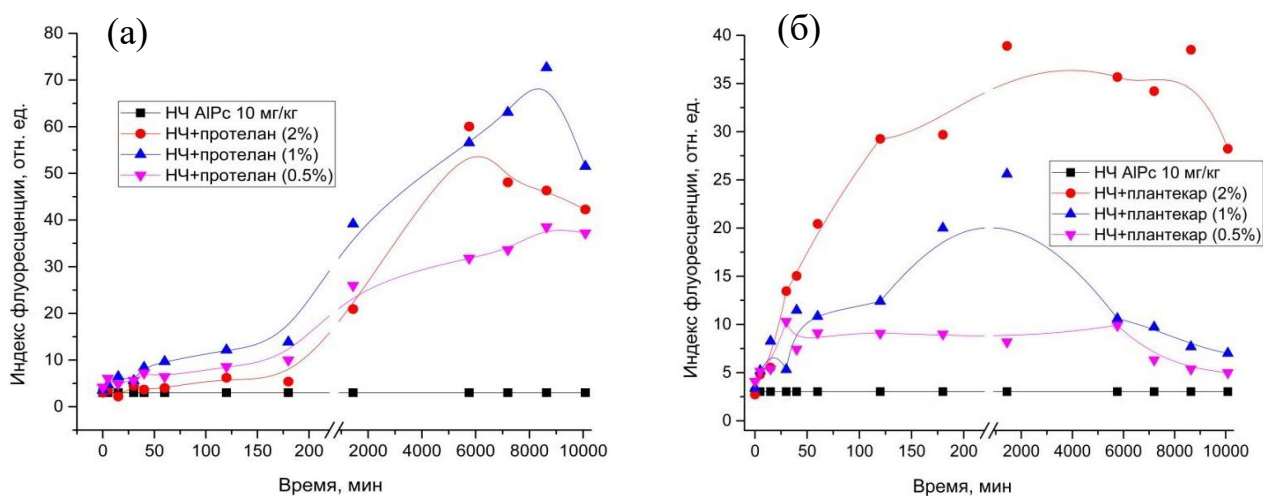


Рисунок 4: (а) график зависимости индекса флуоресценции НЧ АІРС от времени при взаимодействии с протеланом; (б) график зависимости индекса флуоресценции НЧ АІРС от времени при взаимодействии с плантекаром.

Снижение флуоресценции НЧ АІРС, вероятно, связано с их агрегацией и последующим выпадением в осадок. Доля активированных молекул варьируется в диапазонах от 1 до 3 %. Было замечено, что через 4 суток НЧ АІРС во всех экспериментальных образцах начинают выпадать в осадок. При взбалтывании образуются хлопья, которые не растворяются.

Исходя из анализа результатов по исследованию характера взаимодействия коллоида НЧ АІР с различными ПАВ, можно заключить, что в начальные моменты времени во взаимодействие с ПАВ вступают наиболее мелкие частицы и молекулы в составе коллоида и по истечении времени вклад в интенсивность флуоресценции вносят молекулы, относящиеся к более крупным частицам.

Также можно сделать вывод о наличии двух положений поверхностных молекул АІРС. До взаимодействия с ПАВ поверхностные молекулы АІРС находятся в параположении относительно поверхности наночастицы (лежат на поверхности) и не обладают флуоресцентными свойствами. В результате взаимодействия с ПАВ отдельные молекулы АІРС могут быть оторваны от поверхности или перейти в ортоположение (располагаются перпендикулярно поверхности НЧ АІРС): одной связью крепится за поверхность НЧ АІРС, а другой цепляется за молекулу ПАВ. В таком случае молекулы АІРС способны к испусканию флуоресценции.

В ходе проведения экспериментов также было выявлено, что имеется сдвиг на 15 нм в длине волны пика флуоресценции НЧ АІРС при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия относительно других ПАВ вне зависимости от концентрации веществ и времени после начала взаимодействия. На рисунке 5



(а) представлен спектр флуоресценции НЧ АІРС через 40 мин после взаимодействия с различными видами ПАВ.

В качестве объяснения данного эффекта было выдвинуто несколько гипотез: (1) существует разница в рН образцов, которая может влиять на пик флуоресценции [8]; (2) поглощающие характеристики ПАВ вносят вклад в спектр флуоресценции НЧ АІРС; (3) время жизни флуоресценции НЧ АІРС при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия значительно отличается от времени жизни при взаимодействии с другими ПАВ; (4) лаурилэтоксисульфат натрия обладает специфической химической активностью и молекулярным строением, которые влияют на характер взаимодействия с НЧ АІРС; (5) при взаимодействии НЧ АІРС с лаурилэтоксисульфатом натрия происходит образование димеров или агрегатов.

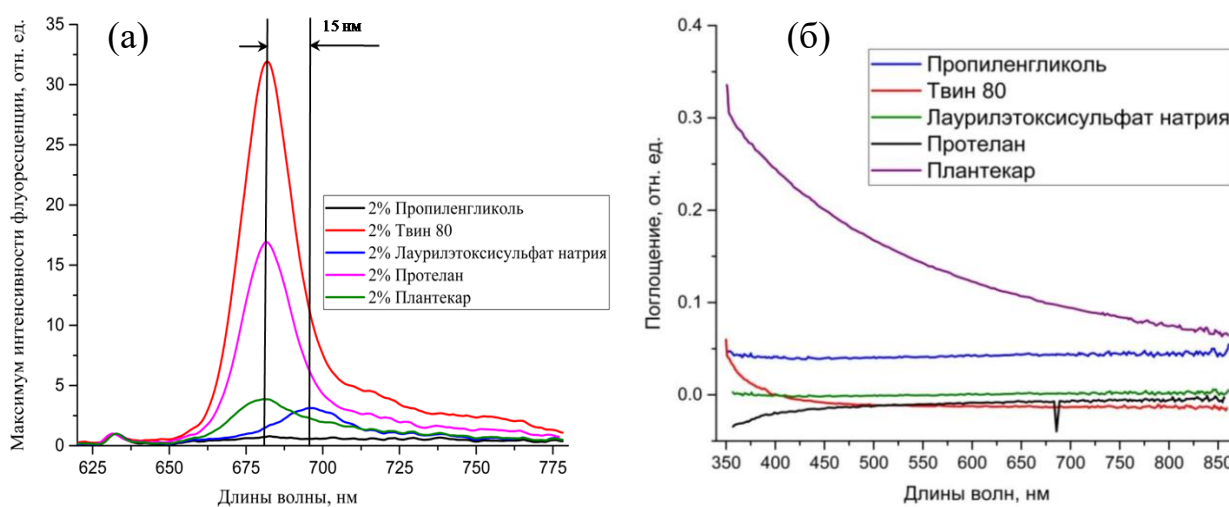


Рисунок 5: (а) спектры флуоресценции НЧ АІРС при взаимодействии с различными ПАВ через 120 мин после приготовления образцов; (б) спектры поглощения различных ПАВ

Анализ рН растворов ПАВ показал, что нет прямой связи между рН образцов и сдвиге в длине волны флуоресценции НЧ АІРС при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия относительно других ПАВ (величины рН составили: 5.5-8 для пропиленгликоля; 5.5-7.5 для твин-80; 7-9 для лаурилэтоксисульфата натрия; 9-10 для протелана и 11.5-12.5 для плантекара).

Далее были получены графики спектров поглощения различных ПАВ в концентрации 1% по объему, полученные при помощи спектрофотометра Hitachi U-3400 (Япония). Результаты представлены на Рисунке 5 (б). Как видно из графиков, рассмотренные ПАВ не поглощают в диапазоне спектра от 350 до 850 нм и не оказывают сильного влияния на спектры флуоресценции НЧ АІРС.

Измерения времен жизни флуоресценции НЧ АІРС при взаимодействии с различными ПАВ показали, что в присутствии лаурилэтоксисульфата натрия времена жизни флуоресценции НЧ АІРС составили 0,9 нс, протелана 8,8 нс, 7.5-7.7 нс для твин-80, плантекара 8,9 нс. Измерения в присутствии пропиленгликоля результатов не дали, так как пропиленгликоль не переводит НЧ АІРС в молекулярную форму. Важно отметить, что ни один из

экспериментальных образцов не обладал критической концентрацией мицеллообразования ПАВ. Также известно, что тип гидрофильной группы ПАВ не влияет на флуоресценцию НЧ АІРс [11].

При взаимодействии с каким-либо ПАВ происходит следующее: молекулы ПАВ окружают частицу, и, из-за взаимодействия (также Ван-дер-Ваальсового) с поверхностными молекулами НЧ, происходит частичный отрыв и изменение пространственного положения поверхностных молекул относительно поверхности наночастицы. Вследствие чего изменяется расстояние между дипольным моментом уже отдельной молекулы и суммарным дипольным моментом в кристалле. В результате чего и осуществляется возможность появления синглетных и триплетных возбужденных состояний у этой отдельной молекулы. Однако, как кристалл, так и молекула ПАВ влияют на дипольный момент молекулы фталоцианина, вследствие чего и происходит изменение флуоресцентных и фотодинамических свойств.

Из литературы известно о батохромном смещении полос в электронных спектрах поглощения (ЭСП) порфиринов [12]. Как указывает автор [12], сильно неплоские Н2Р характеризуются существенными стоксовыми сдвигами Q(0-0)-полосы в спектрах флуоресценции относительно I полосы {Qx(0-0)} поглощения ЭСП. В нашем случае, компоненты модельной смеси влияют на порфириновое кольцо, находящееся в центре АІРс.

После проведения предварительных исследований были приготовлены образцы, спектроскопическое исследование которых необходимо для создания модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом для проведения лазерно-индуцированной ФД зубной эмали. Были созданы: модельная смесь, модельная смесь с коллоидом НЧ АІРс и модельная смесь с коллоидом НЧ АІРс и протеланом. Модельная смесь с коллоидом НЧ АІРс и протеланом была создана в специальных лабораторных условиях и в определенном соотношении всех компонентов (при поддержке ООО «Дентоспек»). Была проведена проверка готового состава на соответствие физико-химическим и микробиологическим показателям в соответствии с ГОСТ7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия». Было получено, что водородный показатель (рН) модельной смеси составил 6,27. В составе также отсутствовала микрофлора: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, плесневые грибы и дрожжи. Модельная смесь с НЧ АІРс и протеланом обладает микробиологической чистотой, однородной и густой консистенцией, пригодной для использования в клинических условиях. Образцы модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом были исследованы сразу после приготовления и после выдержки в специальном термостате при 42° С в течение одного месяца, что эквивалентно нахождению при комнатной температуре в течение 12 месяцев. Результаты спектроскопических исследований образцов представлены на рисунке 6 (а). С оптической точки зрения модельная смесь без НЧ АІРс и протелана и модельная смесь только с коллоидным раствором НЧ АІРс представляют собой абсолютно «черные тела», которые не обладают

выраженной собственной флуоресценцией, что делает их пригодными для разработки модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом.

Спектроскопические свойства модельной смеси сразу после приготовления и после выдержки, моделирующей 12 месячное хранение, изменились в сторону увеличения интенсивности флуоресценции в 2 раза. Таким образом, предварительный срок годности модельной смеси составляет порядка 12 месяцев.

Для количественной оценки процента активированных НЧ АІРс в составе готовой модельной смеси (с НЧ АІРс и протеланом) был приготовлен образец, содержащий модельную смесь и ДМСО, который является растворителем НЧ АІРс. В экспериментальном образце концентрация НЧ АІРс составила 2.5 мг/кг (Рис. 6 (б)). Из полученных результатов можно сделать вывод, что в готовой модельной смеси в активированном состоянии находится порядка 1-5 % молекул АІРс. Такое небольшое количество молекул, находящихся в свободном состоянии, позволит не только увеличить эффективность, но и сократить время проведения лазерно-индуцированной ФД эмали.

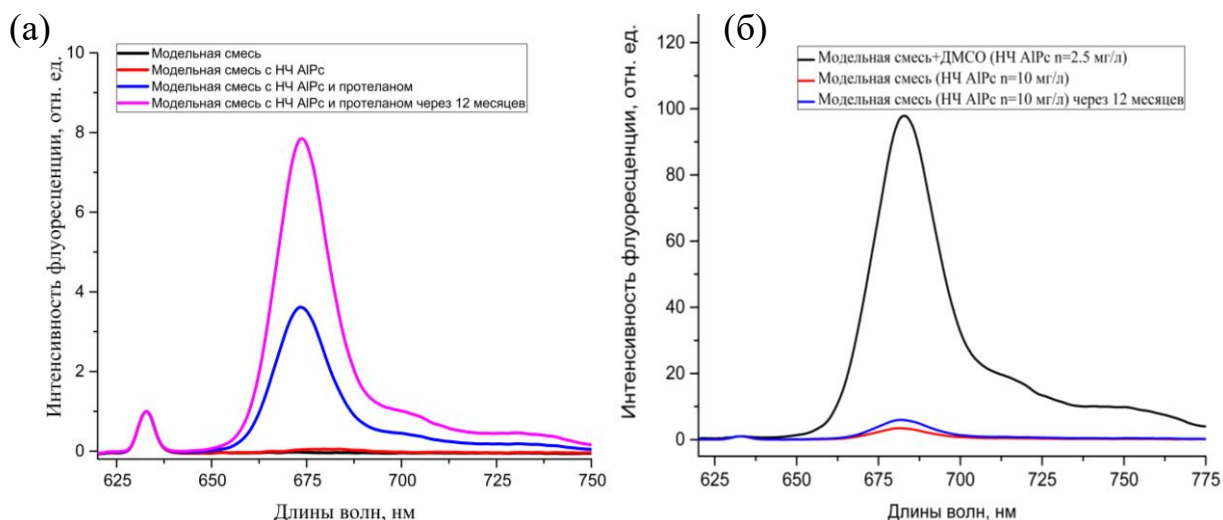


Рисунок 6: (а) спектры флуоресценции модельной смеси, модельной смеси с коллоидом НЧ АІРс и модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом, полученные сразу после приготовления и через 12 месяцев; (б) спектры флуоресценции модельной смеси с ДМСО и модельной смеси сразу после приготовления и спустя 12 месяцев.

В начале Главы 3 приводятся результаты и ссылки на предыдущие работы автора по разработке основных принципов проведения спектральных измерений биологических объектов, которые легли в основу метода проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов с использованием модельной смеси, содержащей НЧ АІРс и протелан. В первом пункте Главы 3 описываются биологические образцы, которые были использованы для проведения исследований взаимодействия коллоида НЧ АІРс (контрольная группа) и модельной смеси (с НЧ АІРс и протеланом) (экспериментальная группа) с поверхностной микрофлорой эмали зубов с целью выявления микротрещин и очагов скопления патогенной микрофлоры (всего 41 образец).



Для лазерно-спектроскопического исследования взаимодействия модельной смеси с поверхностью эмали зубов была использована установка на основе лазерного электронного спектро – анализатора (ЛЭСА-01 «БИОСПЕК»). Для визуального контроля аутофлуоресценции эмали зубов и флуоресценции НЧ АІРС на поверхности эмали зубов была использована видеофлуоресцентная система, которая состоит из источника лазерного излучения (635 нм), светового фильтра с диапазоном пропускания 650-1500 нм и чувствительной черно-белой камеры. Алгоритм проведения эксперимента включал несколько основных этапов. На первом этапе при помощи видеофлуоресцентной установки фиксировались флуоресцентные изображения поверхности эмали зубов, а при помощи лазерного электронного спектроанализатора измерялись спектры аутофлуоресценции эмали в различных областях. Далее коллоид НЧ АІРС или модельная смесь наносились на всю поверхность эмали и через 3 минуты удалялись проточной водой. После этого снова фиксировались видеофлуоресцентные изображения и спектры флуоресценции НЧ АІРС.

Далее полученные спектры флуоресценции были использованы в обработке результатов. Для каждого образца было рассчитано значение коэффициента аутофлуоресценции эмали (до нанесения состава)  $k_{af}$  как отношение площадей под спектром флуоресценции эмали к площади под лазерным пиком. Аналогичные действия проводились для расчета коэффициента флуоресценции  $k_{fl}$  НЧ АІРС после нанесения коллоида или модельной смеси на эмаль в рамках одного образца. Для оценки разницы во флуоресценции с поверхности эмали до и после применения экспериментальных композиций с НЧ АІРС для каждого образца был рассчитан коэффициент диагностической контрастности  $k_{dk}$ , представляющий собой отношение  $k_{fl}$  к  $k_{af}$ .

Таким образом, для каждой экспериментальной группы образцов был получен массив данных с  $k_{af}$  эмали до и  $k_{fl}$  НЧ АІРС после нанесения коллоида НЧ или модельной смеси на эмали зубов, а также данных  $k_{dk}$ . Эти расчеты были использованы для статистического анализа спектроскопических результатов, проводившейся с использованием компьютерной программы «Статистика SPSS v23.0».

Во втором пункте дается описание основных результатов лазерно-спектроскопического исследования взаимодействия коллоида НЧ АІРС с эмалью зубов *ex vivo*, которые показали, что через 3 мин наблюдается невысокая флуоресценция, обусловленная незначительной активацией поверхностных молекул НЧ АІРС.

Заметное усиление флуоресценции молекул АІРС происходит через 1 час после нанесения коллоидного раствора. Это говорит о том, что для самопроизвольной активации поверхностных молекул наночастицы патогенной микрофлорой необходимо некоторое время. Для проведения флуоресцентной диагностики в клинических условиях появление флуоресценции через 1 час после нанесения является слишком большим промежутком времени для проведения процедуры.

В рамках данной работы для ускорения процесса в состав вводится дополнительный активатор НЧ АІРс. На Рисунке 7 представлены спектры аутофлуоресценции эмали до и флуоресценции НЧ АІРс после нанесения коллоида НЧ АІРс и модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом. Из графиков видно, что до нанесения составов присутствует только аутофлуоресценция образцов. После нанесения коллоида НЧ АІРс и модельной смеси на поверхность эмали зубов возникает флуоресценция АІРс, причем интенсивность флуоресценции АІРс после нанесения модельной смеси выше, чем после нанесения коллоида почти в 3 раза.

Добавление протелана в состав модельной смеси позволяет перевести часть НЧ АІРс в молекулярную форму, а часть молекул, находящихся на поверхности НЧ АІРс, сориентировать перпендикулярно поверхности. Нахождение части молекул в свободном состоянии и поверхностных молекул в полусвободном состоянии делает их способными к возникновению относительно быстрой флуоресценции, что позволит сократить время проведения лазерно-индуцированной ФД эмали.

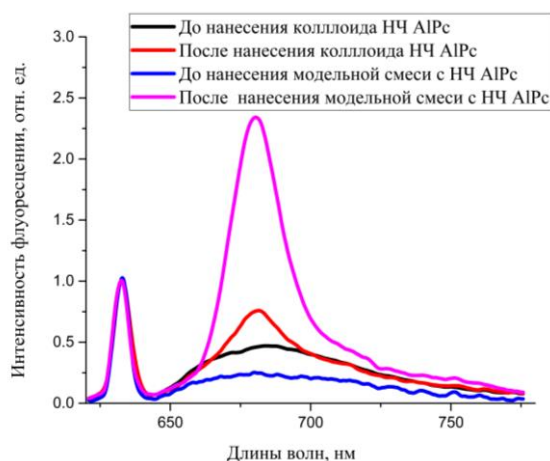


Рисунок 7. Спектры аутофлуоресценции эмали и флуоресценции НЧ АІРс после нанесения коллоида НЧ АІРс и модельной смеси.

Экспериментально было исследовано взаимодействие модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом с поверхностью эмали зубов с использованием установок ЛЭСА-01 «БИОСПЕК» и видеофлуоресцентной камеры согласно алгоритму, описанному выше. На рисунках 8 - 9 представлены видеофлуоресцентные изображения эмали зуба до (а) и после нанесения (б) модельной смеси. Рисунки 8 - 9 (в) отображают соответствующие спектры аутофлуоресценции эмали до (серый цвет) и флуоресценции АІРс после нанесения модельной смеси (черный цвет). Как видно из рисунков, аутофлуоресценция поверхностной микрофлоры выражена слабо. После нанесения модельной смеси на поверхности эмали появляется флуоресценция молекул АІРс, которые были активированы протеланом в незначительном количестве и патогенной микрофлорой, содержащейся на поверхности эмали и в микроповреждениях. Таким образом, по возникновению и усилению флуоресценции молекул АІРс можно судить о возможных микроповреждениях

эмали и очагах скопления патогенной микрофлоры на поверхности. Видеофлуоресцентные изображения поверхности эмали зубов до и после нанесения модельной смеси позволяют качественно оценить места наибольшей интенсивности флуоресценции НЧ АІРс, что поможет в определении потенциальных областей образования скрытого зубного налета, зубного камня или микротрещин.

Статистическая обработка двух групп измерений (контрольной и экспериментальной) на человеческих зубах *ex vivo* с применением t-критерия достоверности Стьюдента показала, что результаты расчета статистически значимы ( $p < 0.05$ ) и использование протелана для дополнительной активации НЧ АІРс обосновано.

На основе полученных экспериментальных результатов был разработан метод проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов с использованием модельной смеси, содержащей НЧ АІРс и протелан, с целью выявления скопления патогенной микрофлоры и микротрещин на поверхности эмали. Было выявлено, что наиболее информативными областями для проведения лазерно-индуцированной ФД эмали зубов является область фиссуры и пришеечная часть зуба. В области фиссуры обычно больше всего скапливается патогенной микрофлоры в силу ее анатомического строения, а также она больше всего подвержена к появлению микротрещин, в ходе жевательного процесса и иных причин. Также пришеечная часть зуба является информативной областью для спектрального анализа в силу того, что начало образования скрытого налета и зубного камня происходит именно в этой области. Наиболее оптимальной мощностью лазера (при длине волны в 633 нм) для проведения лазерно-индуцированной ФД эмали является 2-5 мВт при концентрации НЧ АІРс 10 мг/л в модельной смеси.

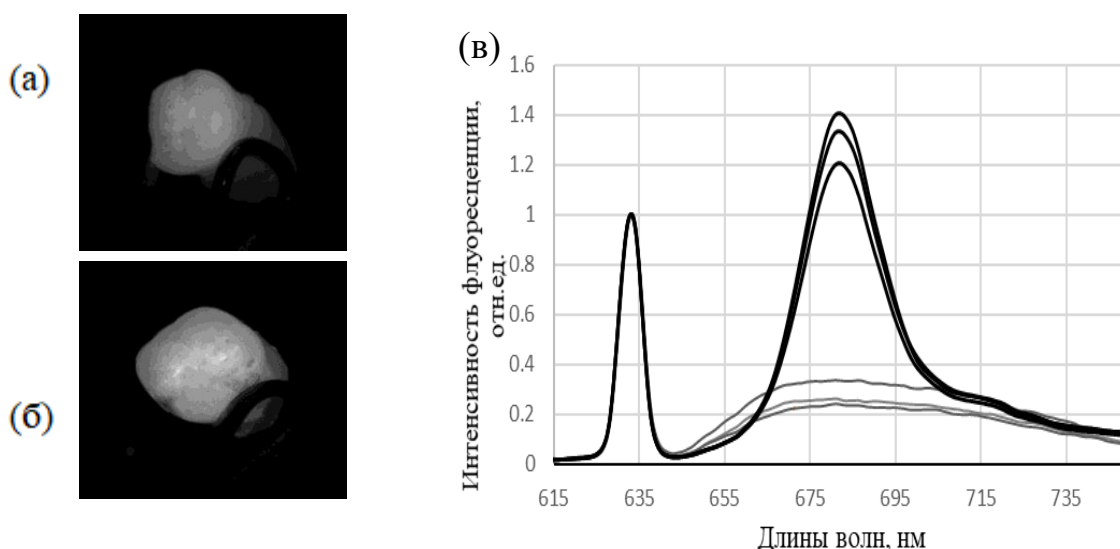


Рисунок 8. Видеофлуоресцентные изображения поверхности эмали зубов до нанесения модельной смеси (а) и через 3 минуты после (б). Спектры аутофлуоресценции эмали до и после нанесения модельно смеси с НЧ АІРс и протеланом (в).

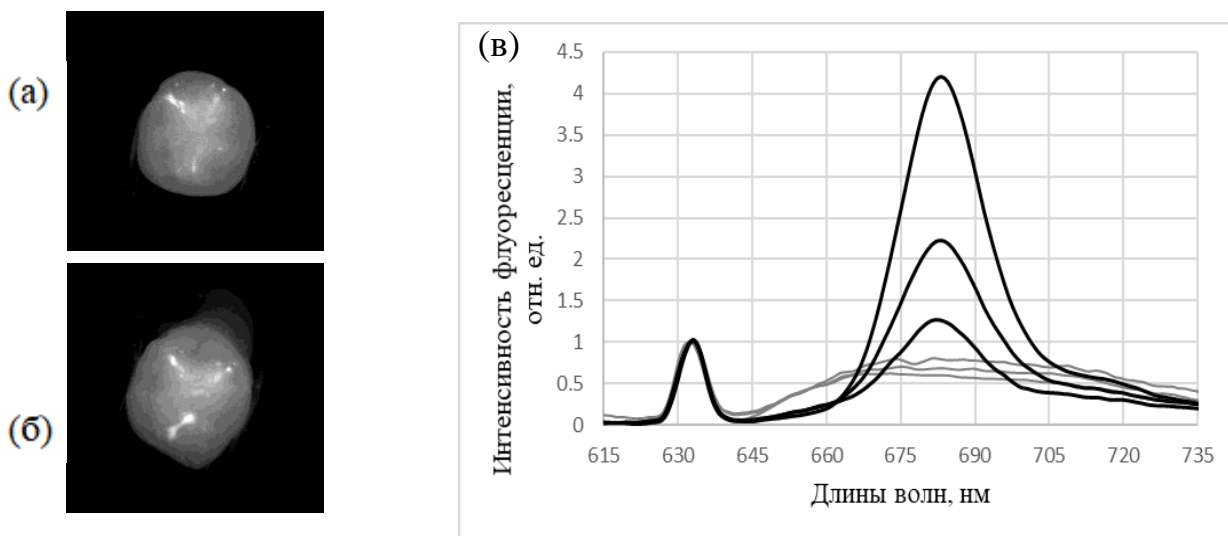


Рисунок 9. Видеофлуоресцентные изображения поверхности эмали зубов до нанесения модельной смеси (а) и через 3 минуты после (б). Спектры аутофлуоресценции эмали до нанесения модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом и после (в).

Экспериментальные результаты *ex vivo* показали, что состав диагностической модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом подобран оптимально и позволит проводить лазерно – индуцированную ФД эмали зубов в клинических условиях через 3 мин после нанесения с небольшими поправками на условия проведения экспериментов.

### Заключение

В ходе подготовки диссертационной работы были сделаны следующие выводы:

1. Предложенный и реализованный метод контроля концентрации и размеров коллоидного раствора НЧ АІРс позволят в режиме реального времени и с высокой точностью оценивать параметры приготавливаемого коллоидного раствора;

2. Отмечен сдвиг спектра флуоресценции фталоцианина алюминия при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия на 15 нм в длинноволновую область спектра относительно других исследуемых ПАВ, связанный с образованием n-меров или агрегатов, которые оказывают влияние на фотофизическое поведение мономера фталоцианина. В результате чего пик спектра флуоресценции НЧ АІРс сдвигается на 15 нм и время жизни флуоресценции НЧ АІРс падает;

3. В начальные моменты времени во взаимодействие с ПАВ вступают наиболее мелкие наночастицы и молекулы АІР из коллоидного раствора, а по истечении времени вклад в интенсивность флуоресценции начинают вносить молекулы, отделившиеся от более крупных частиц;

4. Для создания модельной смеси в качестве вспомогательных компонентов были отобраны вещества: метилпарабен, карбопол, карбоксилметилцеллюлоза, диоксид титана, Na фосфорнокислый, Na сахарин и сорбитол;

5. В качестве дополнительного активатора НЧ АІРс был выбран протелан;  
6. Для создания модельной смеси был использован только один ПАВ в качестве дополнительного активатора НЧ, так как использование комплекса ПАВ неоправданно усложнит дизайн исследования, разработку и применение методики;

7. Пропиленгликоль при концентрациях 0.5-2 % не вызывает флуоресценцию молекул НЧ АІР. Твин-80 уже при концентрации 0,5% вызывает сильную флуоресценцию молекул НЧ АІР, что делает его не подходящим для решения поставленных задач. Остальные ПАВ обладают сравнительными активирующими свойствами НЧ АІР для решения поставленной задачи;

8. Предложенный и реализованный метод лазерно-индуцированной ФД микроповреждений зубной эмали с использованием модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом и низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 633 нм позволяет количественно оценить уровень флуоресценции НЧ АІРс в местах потенциальных микроповреждений эмали зубов и очагов скопления патогенной микрофлоры.

9. Состав диагностической модельной смеси с НЧ АІРс и протеланом оптимально подобран и позволяет проводить лазерно-индуцированную ФД эмали зубов через 3 мин после нанесения;

10. Разработанная модельная смесь является патентуемой научной разработкой и может применяться в качестве профилактической зубной пасты;

11. Статистическая обработка двух групп измерений показала эффективность применения протелана в качестве дополнительного активатора НЧ АІРс для увеличения эффективности проведения лазерно-индуцированной ФД эмали для выявления микротрещин эмали и очагов скопления патогенной микрофлоры и сокращения времени проведения процедуры в целом.

### **Список литературы, цитируемой в автореферате**

1. Thomas S.S. et al. Clinical trial for detection of dental caries using laser-induced fluorescence ratio reference standard. // J. Biomed. Opt. 2013. Vol. 15, № 2. P. 1–8.
2. Bakhmutov D., Gonchukov S., Sukhinina A. Fluorescence spectroscopy of dental calculus // Laser Phys. Lett. 2010. Vol. 7, № 5. P. 384–387.
3. Drakaki E. et al. Reflectance, scattering and laser induced fluorescence for the detection of dental caries. // Diagnostic Opt. Spectrosc. Biomed. II. 2003. Vol. 5141. P. 5141\_348.
4. Borisova E.G., Uzunov T.T., Avramov L.A. Early differentiation between caries and tooth demineralization using laser-induced autofluorescence spectroscopy // Lasers Surg. Med. 2004. Vol. 34, № 3. P. 249–253.
5. Sinyaeva M.L. et al. Fluorescence Diagnostics in Dentistry // Laser Phys. 2004. Vol. 14, № 8. P. 1132–1140.
6. Синяева М.Л. et al. Использование наночастиц фталоцианина алюминия

- для детектирования микроповреждений эмали зубов // Российские нанотехнологии. 2007. Vol. 2, № 11–12. P. 58–63.
7. Borisova E., Uzunov T., Avramov L. Laser-induced autofluorescence study of caries model in vitro // *Lasers Med. Sci.* 2006. Vol. 21, № 1. P. 34–41.
  8. Bystrov F.G. et al. Analysis of photoluminescence decay kinetics of aluminum phthalocyanine nanoparticles interacting with immune cells // *Biomed. Photonics.* 2016. Vol. 1. P. 3–8.
  9. Asem H. et al. Development and biodistribution of a theranostic aluminum phthalocyanine nanophotosensitizer // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* Elsevier B.V., 2016. Vol. 13. P. 48–57.
  10. Cath T.Y., Adams D., Childress A.E. Membrane contactor processes for wastewater reclamation in space: II. Combined direct osmosis, osmotic distillation, and membrane distillation for treatment of metabolic wastewater // *J. Memb. Sci.* 2005. Vol. 257, № 1–2. P. 111–119.
  11. Холмберг К. et al. Поверхностно - активные вещества и полимеры в водных растворах. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. 513 p.
  12. Д.Б. Б. Макроциклический эффект и структурная химия порфиринов. Москва: Красанд, 2010. 424 p.

#### ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**1. Zolotareva J.O.,** Loschenov V.B. Fluorescent diagnostics using aluminum phthalocyanine nanoparticles as a detection method for enamel microcracks // *Laser Phys. Lett.* 2018. 15 (12), 125701.

**2. Золотарева Ю.О.,** Фаррахова Д.С., Лощенов В.Б., Активация наночастиц фталоцианина алюминия для флуоресцентной диагностики в стоматологии// *Biomedical Photonics* 2018. 7(3), стр. 4-20.

**3. Ю.О.Золотарева,** В.Б.Лощенов, Лазерно-индуцированная флуоресценция наночастиц фталоцианина алюминия в ранней диагностике микроповреждений эмали зубов, *Медицинская физика* 2018, №2 (78), стр. 65-72.

**4. Yagudaev D.M.,** Brechov E.I., Saidov A.C., Kalyagina N.A., **Kuznetsova J.O.,** Loschenov V.B, Lymphotropic administration of photosensitizer as a model of target therapy of testicle inflammation: experimental and clinical data, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2016. Volume 13, P. 15–21.

**5. Ю.О. Кузнецова,** А.С. Саидов, Н.А. Калягина и др., "Исследование аутофлуоресценции и флуоресценции «Фотодитазина» в органах мышей при различных методах введения", *Известия Самарского научного центра РАН* 2013, том 15, № 6-1, стр.109-112.

**6. А.С. Саидов,** Д.М. Ягудаев, Е.И. Брехов, **Ю.О.Кузнецова,** Н.А.Калягина "Особенности распределения и накопления фотосенсибилизатора у мышей с экспериментальной моделью воспаления при различных способах его введения", *Хирургическая практика* 2014, №2, с. 25-29.

**7. Ю.О. Кузнецова** "Передача электронного возбуждения в ап-конверсионных наночастицах, содержащих редкоземельные ионы", *Известия Самарского научного центра Российской академии наук* 2013, т. 15, №4-1, с. 112-115.

**8. Zolotareva J.O.,** Farrakhova D.S., Loschenov V.B. Aluminium phthalocyanine nanoparticles application for fluorescent diagnostics and photodynamic therapy in dentistry,

The 2nd International Symposium on Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine // KnE Energy & Physics 2018. Vol. 2018. P. 568–577.

9. M. Domke, S. Wick, M. Laible, S. Rapp, **J. Kuznetsova**, C. Homann, H. P. Huber, R. Sroka, Investigations of the damage mechanisms during ultrashort pulse laser ablation of dental tissue, European conferences on biomedical optics in Medical Laser Applications and Laser-Tissue Interactions VII 2015. Proc. of SPIE-OSA Biomedical Optics, SPIE Vol. 9542, 95420Q, Munich, Germany.

10. **J. O. Kuznetsova**, V. I. Makarov, Application of nanophotosensitizers (aluminum phthalocyanine nanoparticles) for early diagnosis and prevention of inflammatory diseases, Journal of Physics: Conference Series, V International Conference of Photonics and Information Optics\_ IOP Publishing 2016. Том 737, выпуск 1.

11. D. S. Farrakhova, **J. O. Kuznetsova** and V. B. Loschenov, The study of laser induced fluorescence of tooth hard tissues with aluminum phthalocyanine nanoparticles, Journal of Physics: Conference Series, V International Conference of Photonics and Information Optics \_ IOP Publishing 2016, 737 (1).

12. **J. O. Kuznetsova**, Dina S. Farrakhova, Maxim G. Yassin, Aluminum phthalocyanine nanoparticles as a contrast agent for the detection of tooth enamel microcracks, Photonics & Lasers in Medicine 2016. Vol. 5, Issue 4, P. 267–322.

13. **Julia O. Zolotareva**, Dina S. Farrakhova and Victor B. Loschenov, Aluminium phthalocyanine nanoparticles for FD and PDT application in dentistry, 9th International Medical Congress Laser Florence 2017 Laser Light and Drug, Laser in Medical Science, Vol. 32, Issue 8, p. 1669–1710.

14. **Ю.О. Кузнецова** "Передача электронного возбуждения в ап-конверсных наночастицах, содержащих редкоземельные ионы", материалы II Международной молодежной научной школы "Современные проблемы физики и технологий", Сборник трудов школы 2013.

15. **Кузнецова Ю.О.**, Макаров В.И., Применение нанофотосенсибилизатора (наночастиц фталоцианина алюминия) для ранней диагностики и профилактики воспалительных заболеваний. V Международная конференция по фотонике и информационной оптике 2016, Сборник научных трудов, НИЯУ МИФИ, Москва.

16. Д.С. Фаррахова, **Ю.О. Кузнецова**, В.Б. Лощенов Лазерно-индуцированная флуоресцентная диагностика ранней стадии кариеса с применением наночастиц фталоцианина алюминия, V Международная конференция по фотонике и информационной оптике 2016, Сборник научных трудов, НИЯУ МИФИ, Москва.

17. **Кузнецова Ю.О.**, Фаррахова Д.С., Яссин М.Г., Лощенов В. Б., Наночастицы фталоцианина алюминия для раннего выявления заболеваний бактериальной природы, Материалы V Всероссийской конференции "Фотодинамическая терапия и фотодиагностика", Biomedical Photonics: специальный выпуск 2016, стр. 6.

18. **Ю.О. Золотарева (Кузнецова)**, Д.С. Фаррахова, В.Б. Лощенов, Ранняя диагностика и профилактика кариеса с использованием наночастиц фталоцианина алюминия, Материалы шестой всероссийской конференции с международным участием "Фотодинамическая терапия и фотодиагностика", Biomedical Photonics: специальный выпуск 2017, стр. 8.

19. **Ю.О. Кузнецова**, Передача электронного возбуждения в ап-конверсионных наночастицах, содержащих редкоземельные ионы, X Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, Сборник конкурсных докладов 2012.

20. **Ю.О. Кузнецова**, А.С. Саидов, Н.А. Калягина, Д.М. Ягудаев "Спектральные особенности различных органов мыши и накопления в них Фотодитазина на различных временных промежутках", II Всероссийская конференция с

международным участием «Актуальные вопросы Фотодинамической терапии и Фотодиагностики», Фотодинамическая терапия и фотодиагностика: специальный выпуск 2013, №3, с. 34-35.

**21.** Саидов А.С., Ягудаев Д.М., Брехов Е.И., Калягина Н.А., **Кузнецова Ю.О.** "Накопление фотосенсибилизатора при его лимфотропном и внутривенном введении лабораторным животным с экспериментальной моделью воспаления", II Всероссийская конференция с международным участием «Актуальные вопросы Фотодинамической терапии и Фотодиагностики», Фотодинамическая терапия и фотодиагностика: специальный выпуск 2013, №3, с. 36-37.

**22.** **Ю. О. Кузнецова**, А.С. Саидов, Н.А. Калягина, "Исследование аутофлюоресценции и флюоресценции «Фотодитазина» в органах мышей при различных методах введения", XI Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Сборник конкурсных докладов 2013, с. 335-341.

**23.** А.С. Саидов, Д.М. Ягудаев, Е.И. Брехов, Н.А.Калягина, **Ю.О. Кузнецова**, "Особенности распределения и накопления фотосенсибилизатора у мышей с экспериментальной моделью воспаления при различных способах его", XI Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Сборник конкурсных докладов 2013, с. 96-102.

**24.** **J. O. Kuznetsova**, N.A. Kalyagina, A.S. Saidov, D.M. Yagudaev, "Laser spectroscopy study of the distribution of photosensitizers in biological models", XVI Международная конференция «Laser Optics 2014», Сборник тезисов 2014, Санкт-Петербург.

**25.** **J.O. Kuznetsova**, D.S. Farrakhova, M. G. Yassin. Aluminum phthalocyanine nanoparticles as a contrast agent for the detection of tooth enamel microcracks. // The International Conference on Lasers, Applications and Technologies (LAT2016). LWF4; Book of abstracts, Minsk, Belarus.

**26.** Ягудаев Д.М., **Кузнецова Ю.О.**, Калягина Н.А. и др. Фотосенсибилизатор для детектирования распределения препарата в тканях и органах при лимфотропном введении при остром воспалении яичка и его придатка. IV всероссийская конференция «Актуальные вопросы фотодинамической терапии и фотодиагностики», Сборник трудов 2015, Санкт-Петербург.

**27.** **Кузнецова Ю.О.**, Фаррахова Д.С., Лощенов В.Б. Кристаллические наночастицы для ранней диагностики заболеваний полости рта // Первый Российский Кристаллографический Конгресс, Сборник тезисов 2016, с.208.

**28.** **Julia O. Zolotareva (Kuznetsova)**, Dina S. Farrakhova and Victor B. Loschenov, Aluminium phthalocyanine nanoparticles for FD and PDT application in dentistry, II International Symposium on «Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine», Сборник тезисов 2017, НИЯУ МИФИ Москва.

**29.** **J.O. Zolotareva (Kuznetsova)**, V.B. Loschenov. Method of laser-induced fluorescent diagnostics of enamel microcracks using aluminum phthalocyanine nanoparticles. // 18th International Conference on Laser Optics ICLO 2018, St.Petersburg, Russia, 4-8 June, 2018. ThSMD-27. P.101.