

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА «ФОТОЛОН» ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ДЕНТИНА

Г.Г. Чистякова, Н.И. Росеник

Белорусский государственный медицинский университет

Кариес является одним из самых распространённых стоматологических заболеваний. Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения распространённость кариеса достигает 97-98% среди населения Земли. При недостаточной медикаментозной обработке твёрдых тканей зуба после препарирования кариозной полости патогенные микроорганизмы остаются в дентинных каналах, размножаются и приводят к рецидивированию заболевания. Такая высокая распространённость осложнений кариеса говорит о необходимости использования более эффективного метода дезинфекции дентинных канальцев, который бы обладал выраженным бактерицидным эффектом и в то же время не влиял бы на здоровые ткани и на образование устойчивых штаммов микроорганизмов [1].

Это возможно осуществить в результате применения новой и перспективной методики — фотодинамической терапии (ФДТ), которая обеспечивает более полноценное, чем обычные антисептические средства, удаление кариесогенных бактерий из поражённых тканей зуба [2, 3, 4].

Препарат Фотолон® (Белмедпрепараты) по большей части удовлетворяет требованиям «оптимального» фотосенсибилизатора, и поэтому он является одним из наиболее перспективных препаратов на основе хлорина е6, официально разрешенным к клиническому применению и для которого накоплено большое количество экспериментальных и клинических данных, подтверждающих его высокую эффективность и безопасность. Именно поэтому в наших исследованиях применяется этот белорусский фотосенсибилизатор [5].

Однако эффективность проведения ФДТ будет зависеть не только от способности фотосенсибилизатора проникать в дентинные каналы, но и от его фотостабильности в течение периода активации. Поскольку препарат «Фотолон» выпускается в форме 1% геля и порошка для приготовления раствора, актуальным является проведение сравнительной оценки глубины пенетрации данных форм фотосенсибилизатора в дентинные каналы, а также их фотодеструкции в течение периода активации [6,7].

Цель исследования: оптимизация формы и времени экспозиции препарата «Фотолон» для проведения фотодинамической терапии при лечении кариеса дентина зубов *in vitro*.

Для достижения поставленной цели нами были сформулированы следующие задачи:

Исследовать степень пенетрации фотосенсибилизатора в дентинные каналы в зависимости от формы выпуска препарата «Фотолон» методом флуоресценции. Создать систему, состоящую из осветителя со средней длиной волны 420 нм (соответствует основной полосе поглощения препарата «Фотолон») и закрепленного на специальном штативе фотоаппарата Canon Powershot A620 (7Мр) с желтым фильтром (ЖС-17), который задерживает возбуждающий свет, пропуская красную флуоресценцию препарата (650 нм). Фотоаппарат управлялся с компьютера по USB с помощью программы PSRemote. Изучить флуоресцентную активность 1% геля и 1% раствора препарата «Фотолон» в процессе эксперимента в течение 10 мин методом цейтраферной фотосъемки. Дать сравнительную оценку фотодеструкции фотосенсибилизатора в зависимости от формы выпуска препарата «Фотолон».

Материалы и методы. В исследовании использовали 15 интактных моляров, удаленных по ортодонтическим показаниям. Партитура зубов была следующая:

- исследуемая группа с 1% раствором «Фотолон» (N=5);
- исследуемая группа с 1% гелем «Фотолон» (N=5);
- контрольная группа (N=5).

В образцах первой исследуемой группы в качестве фотосенсибилизатора применялся препарат для фотодинамической терапии «Фотолон» в виде 1% раствора, в образцах второй исследуемой группы — «Фотолон» в виде 1% геля, а в контрольной группе — 0,9% раствор натрия хлорида. На время проведения эксперимента зубы находились в гидратированной среде.

В ходе выполнения данной научной работы нами применялись лабораторный и статистический методы исследования. Экспериментальные исследования были проведены на кафедре общей стоматологии БГМУ, кафедре электронной техники и технологий БГУИР и на кафедре генетики БГУ. Статистическая обработка материала выполнялась с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа Statistica 6.0. Результаты исследования считали статистически достоверными при уровне значимости 95%.

Для исследования глубины проникновения фотосенсибилизатора в дентинные каналы зуба использовалась следующая методика. На окклюзионной поверхности зубов цилиндрическим бором были искусственно созданы полости ящикообразной формы (I класс по Блеку), имитирующие кариес дентина. Отпрепарированные полости всех образцов обрабатывали протравочным гелем Scotchbond (3M ESPE) на основе 35% фосфорной кислоты в течение 20 с. для удаления смазанного слоя и обеспечения более глубокого проникновения фотосенсибилизатора в дентинные каналы. Затем гель смывали дистиллированной водой, полости высушивали с помощью ватного шарика.

В отпрепарированные полости 1-ой исследуемой группы зубов наносили с помощью аппликатора 1% раствор препарата «Фотолон». Для приготовления раствора использовалась мерная ложечка для дозирования порошка и инсулиновый шприц с 0,9% раствором натрия хлорида. Предварительно было рассчитано на электронных весах, что один такой мерник содержит 7,7 мг порошка. Таким образом, для приготовления 1% раствора необходимо смешать один мерник порошка с 770 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Время экспозиции составляло 60 с. Активацию фотосенсибилизатора проводили светодиодной ультрафиолетовой лампой LEDEX WL-070 с длиной волны излучения 460 нм и мощностью 1000 мВт в течение 60 с.

В отпрепарированные полости 2-й исследуемой группы зубов наносили с помощью аппликатора 1% гель «Фотолон». Время экспозиции составило 60 с. Активацию проводили светодиодным источником излучения по такой же схеме, как и в исследуемой группе №1. В отпрепарированные полости контрольной группы апплицировали только 0,9% раствор натрия хлорида в течение 60 с.

Все исследуемые образцы распиливались в сагитальном направлении на уровне отпрепарированных полостей. Первым этапом проводилось исследование полученных образцов на флуоресцентном микроскопе AxioImage.A1 фирмы Zeiss (объектив A-Plan 20×/0,45). Фотографические изображения были получены телекамерой DS-5Mc фирмы Nikon с использованием программы Image Pro Plus 6.0. Измерение глубины проникновения фотосенсибилизатора в дентинные каналы проводили путем расчета размера очага флуоресценции в микрометрах после калибровки. Калибровочный фактор составил 0,33.

На втором этапе проводилась запись изображений образцов 1-й и 2-й исследуемых групп в течение 10 мин с 30 с интервалом. Для оценки фотодеструкции фотосенсибилизатора полученные изображения попиксельно сравнивались между собой с дополнительной обработкой цифровым фильтром Laplasian, позволяющим определить малейшие изменения яркости.

Результаты исследования и их обсуждение. На цифровом микроскопе нами были получены фотографические изображения объектов исследования до и после аппликации фотосенсибилизатора. Красное свечение фотосенсибилизатора в дентинных трубочках свидетельствует о способности 1% раствора «Фотолон» проникать в них. Среднее значение показателей наибольшей глубины проникновения 1% раствора фотосенсибилизатора в дентинные каналы образцов 1-й исследуемой группы составило $15,94 \pm 3,33$ мкм.

На фотографических изображениях 2-й исследуемой группы четко прослеживается ярко красное свечение фотосенсибилизатора в виде полоски на поверхности стенок отпрепарированной полости. Это говорит о густой консистенции 1% геля «Фотолон» и отсутствии его способности

проникать в дентинные каналы за период экспозиции. На фотографических изображениях образцов контрольной группы красного свечения обнаружено не было.

Цейтраферная фотосъемка (time-laps photography) позволила визуализировать изменения, происходящие с фотосенсибилизатором с течением времени. Отсутствие изменений интенсивности флуоресценции 1% раствора «Фотолон» в течение 10 мин свидетельствовало о его фотостабильности вне зависимости от времени экспозиции.

Интенсивность флуоресценции 1% геля препарата «Фотолон» с течением времени увеличилась, что свидетельствовало об увеличении активности фотосенсибилизатора с увеличением времени экспозиции и об отсутствии фотостабильности данной формы препарата.

Выводы. В результате проведенных исследований установлено, что 1% раствор препарата «Фотолон» при аппликации в течение 1 мин проникает в дентинные каналы на глубину не более 16 мкм. Нами обнаружено проникновение фотосенсибилизатора в форме геля в дентинные каналы при таких же условиях применения.

Сравнительная оценка очагов флуоресценции 1% препарата «Фотолон» в форме раствора и геля в течение 1 мин позволила определить степень фотодеструкции фотосенсибилизатора с течением времени.

Очаги флуоресценции раствора препарата «Фотолон» за время наблюдения практически не изменились, что свидетельствует о его фотостабильности. Очаги флуоресценции геля препарата «Фотолон» за время наблюдения регистрировались с нарастающей интенсивностью, что свидетельствует о наименьшей его фотостабильности. Активация 1% раствора «Фотолон» светодиодом в течение 60 с. не вызвала его фотодеструкцию.

Данное исследование позволит разработать методику ФДТ при лечении кариеса дентина и сделать её доступной на поликлиническом приеме врача стоматолога.

DETERMINATION OF THE «FOTOLON» FORM EFFECTIVENESS FOR THE PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE TREATMENT OF DENTINE CARIES

G.G. Chistyakova, N.I. Rosenik

Summary. Photodynamic therapy has a great advantage over different traditional antiseptics in many areas of dentistry due to the high bactericidal effect and the absence of the resistance development. This promising technique can be used to prevent the development of secondary caries, removing pathogens from the dentinal tubules. However it's very important that the photosensitizer could penetrate dentinal tubules for destroying cariogenic microorganisms. It is therefore necessary to optimize the concentration and the substance of the photosensitizer for the most effective application.

Литература.

1. Дж. Пирсон, Гэйвин. Использование новой методики дезинфекции при лечении кариеса и его осложнений, а также при эндодонтическом лечении / Гэйвин Дж. Пирсон, Стивен Дж. Бонсор // Клиническая стоматология. – 2008. - №2. – С. 22-26.
2. Наумович, С.А. Применение лазерных технологий в стоматологии / С.А. Наумович, А.В. Кувшинов, А.П. Дмитроченко // Современная стоматология. – Минск, 2006. – № 1. - С. 4-13.
3. Орехова, Л.Ю. Фотодинамическая терапия в клинике терапевтической стоматологии / Л.Ю. Орехова, А.А. Лукавенко, О.А. Пушкарев // Клиническая стоматология. - 2009. - №1. – С.26-30.
4. Прохончуков, А.А. Компенсаторные и адаптационные механизмы сосудистой системы пульпы зуба и пародонта / А.А. Прохончуков, Н.А. Жижина, Ю.С. Алябьев, В.В. Ермолов // Стоматология для всех. – 2009. - №4. – С.16-21
5. Burns, T. Sensitisation of cariogenic bacteria to killing by light from a helium-neon laser / T.Burns, M,Wilson, G.J. Pearson //Journal of Medical Microbiology. – 1993. - No. 38. - pp. 401-405.
6. Gomer, J.Charles. Photodynamic Therapy. Methods and Protocols. / J.Charles Gomer // Humana Press. – New York, 2010.
7. GURSOY, H. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review / H. GURSOY, C. OZCAKIR-TOMRUK, J. TANALP, S. YILMAZ // Clinical Oral Investigations. - Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012. - DOI10.1007/s00784-012-0845-7.