

Результаты применения фотодинамической терапии при лечении кариеса зубов

Авторы: профессор, д.м.н. Рабинович И.М., к.м.н. Величко И.В. ФГБУ ЦНИИС и ЧЛХ, генеральный директор группы компаний ВЕТА ГРАНД Ашмаров В.В.

В стоматологии под термином фотодинамическая терапия (ФДТ) принято считать фотоактивируемую дезинфекцию (ФАД), применяемую при лечении кариеса и его осложнений, в парадонтологии и при заболеваниях слизистой оболочки рта. Суть метода состоит в уничтожении клеток патогенной микрофлоры под воздействием активных форм кислорода, образующихся после окрашивания их клеточных мембран специально разработанным фотосенсибилизатором (ФС) с последующей активацией терапевтического светового лазера. В данной работе показаны эффективность ФДТ с применением в качестве фотосенсибилизатора препарата фотодитазин при лечении кариеса зубов.

Данное исследование базируется на результатах клинико-лабораторного исследования.

Клиническое исследование проводили на базе отделения кариесологии и эндодонтии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ». Под клиническим наблюдением находились 92 пациента в возрасте от 17 до 65 лет, которым было проведено лечение 118 зубов с кариесом дентина.

В зависимости от методики антисептической обработки кариозной полости все пациенты, включенные в исследование, были разделены на 3 группы (таблица 1). В группах №1 и №2 проводилась обработка зубов с применением фотодинамической терапии, в группе №3 (контрольной) - традиционная антисептическая обработка кариозной полости 0,12 % раствором хлоргексидина. Остальные этапы лечения кариеса во всех группах были одинаковыми.

Таблица 1

Распределение пациентов на группы в зависимости от методики антисептической обработки кариозной полости

Группы	Методика антисептической обработки кариозной полости	Количество пациентов	Количество зубов
№1	Фотодинамическая терапия: обработка Фотодитазином с последующим облучением лазером в течение 30 с	30	38
№2	Фотодинамическая терапия: обработка Фотодитазином с последующим облучением лазером в течение 60 с	30	40
№3 (контрольная)	Традиционная обработка: промывание 0,12% раствором хлоргексидина	32	40
Всего		92	118

При постановке диагноза кариеса пользовались общепринятой классификацией МКБ-10.

После обследования и постановки диагноза пациенту проводили обезболивание и оперативную обработку нависающих краев кариозной полости турбинным наконечником с максимальным соблюдением всех правил асептики и антисептики.

После завершения механической обработки и изоляции зуба от слюны у пациентов групп №1 и №2 проводили дезинфекцию кариозной полости методом фотодинамической терапии. Стенки и дно подготовленной полости покрывали 0,5 % гелем Фотодитазина равномерным слоем до 1 мм, который оставляли на 30 с. Затем проводили облучение с помощью лазерного аппарата в непрерывном режиме, время экспозиции составляло в группе №1 - 30 с, в группе №2 – 60 с.

В группе №3 (контрольной) после препарирования кариозной полости осуществляли традиционную антисептическую обработку 0,12% раствором хлоргексидина.

Дальнейшее лечение зубов у пациентов во всех группах проводили по стандартной методике с использованием адгезивной техники и постоянной реставрации.

Лабораторная часть включала в себя забор материала для первичного микробиологического исследования, который проводили после раскрытия кариозной полости и механического удаления нежизнеспособного дентина. Область исследуемого зуба изолировали при помощи коффердама. Сбор материала производили путем соскобов дентина со стенок кариозной полости стерильным стоматологическим экскаватором №2.

Повторное взятие материала осуществляли в группах №1 и №2 после проведения фотодинамической терапии, в контрольной группе – после обработки кариозной полости раствором хлоргексидина. Таким образом, получали две группы образцов дентинных опилок, взятые до и после антисептической обработки кариозной полости.

Полученные образцы дентинных опилок помещали в пробирку типа Eppendorf, содержащую 500 мкл физиологического раствора, перемешивали и отправляли в микробиологическую лабораторию.

Для выявления в материале маркерных фрагментов ДНК бактерий *Fusobacterium spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Veilonella spp.*, *Prevotella intermedia* применяли метод мультиплексной ПЦР, позволяющий исследовать 2 и более праймеров нескольких возбудителей.

Всего в ходе работы с помощью ПЦР-диагностики выполнено 236 микробиологических исследований.

Бактериологическое исследование проводили в соответствии с общепринятыми методами. Для культивирования кариесогенных

стрептококков использовали специальные питательные среды (5% гемин-агар, митис-саливариус агар). Посевы выдерживали в термостате при температуре 37⁰ С в течении 3-5 суток. На основании культуральных, морфологических и биохимических признаков идентифицировали выделенные микроорганизмы. Определяли видовой и количественный состав полученных штаммов.

В качестве фотосенсибилизатора использовали гель-пенетратор светового излучения «Фотодитазин», содержащий в 1 мл 5 мг активного вещества – фотодитазина (рис. 1).

Фотодитазин® был разработан в 1992 году в компании ООО «БЕТА-ГРАНД», входящей в ОАО «Группа компаний «ГРАНД» (Россия). Это препарат природного происхождения на основе производных хлорофилла А, представляющий собой N-диметилглюкаминую соль хлорина Е6. Его получают из биомассы микроводоросли *Spirulina platensis* Gom. Geitleri, культивируемой в асептическом биофотореакторе. Фотодитазин существенно безопаснее других фотосенсибилизаторов, разрешенных к клиническому применению. Усовершенствованная технология очистки препарата позволила практически полностью исключить специфические и неспецифические побочные эффекты.



Рис.1. Гель-пенетратор светового излучения «Фотодитазин».

Гель-пенетратор светового излучения Фотодитазин представляет собой гель темно-зеленого цвета, обладающий легким запахом морских водорослей. Препарат выпускается в одноразовом шприце с пластмассовым колпачком в стерильной упаковке. Проникновение Фотодитазина в ткани обусловлено его способностью растворяться в белково-липидных комплексах клеточных мембран. В электронном спектре поглощения Фотодитазина наблюдаются пять характеристических полос поглощения с максимумами при длинах волн 400 ± 2 нм, 504 ± 2 нм, 534 ± 2 нм, 608 ± 2 нм, 662 ± 2 нм. Максимум при 662 нм имеет большое значение, так как расположен в той части спектра, которому соответствует большая проникающая способность излучения в ткани человека.

Для активации фотосенсибилизатора использовали полупроводниковый лазерный аппарат «Латус-04», специально разработанный для фотодинамической терапии в стоматологии (ЗАО «Полупроводниковые приборы», Россия, регистрационное удостоверение № ФС 022а2006/3307-06 от 16.05.2006 г.).

Медицинские лазерные аппараты Латус разработаны на основе высококачественных лазерных диодов, обладающих высокой надежностью и большим ресурсом. Низкоинтенсивное лазерное излучение не вызывает термического нагрева и необратимых изменений в живых тканях. Удобная и простая система управления позволяет контролировать мощность и другие параметры лазерного излучения, задавать требуемое время облучения.

Технические характеристики аппарата «Латус-04»: мощность 400 мВт, длина волны 661 ± 5 нм, толщина гибкого волоконного световода 400 мкм (рис. 2). Аппарат может работать в двух режимах: импульсном или непрерывном. В случае выбора импульсного режима, можно задавать период следования импульсов и их длительность.



Рис.2. Лазерный аппарат для фотодинамической терапии «Латус-04».

На основании проведенного ПЦР анализа микрофлоры при кариесе дентина было установлено, что до начала лечения у 59 (74,7%) пациентов было обнаружено ДНК пигментообразующих бактерий. При этом у 16 (20,2%) пациентов обнаружено два вида, а у 43 (54,4%) - один вид микроорганизмов. Лишь у 20 (25,3%) пациентов проба не содержала ДНК микроорганизмов.

Такое различие среднего количественного показателя обсемененности микроорганизмами кариозной полости, на наш взгляд объясняется различным клиническим течением кариеса и индивидуальной иммунологической реактивностью организма пациента.

В процессе ПЦР-анализа при кариесе дентина наиболее часто выявляли генетические маркеры ДНК пяти видов наиболее вирулентных анаэробных бактерий: *Prevotella intermedia* – в 10 (7,4 %) случаев, *Fusobacterium spp.*-в 17 (12,6 %), *Enterococcus Faecalis*– в 23 (17 %), *Veilonella spp.*-в 29 (21,5 %), *Candida albicans*– в 56 (41,5 %) случаев.(таб 2)

Таблица 2 Сравнительная частота выявления с помощью ПЦР вирулентных анаэробных бактерий при кариесе дентина (n = 135)

Вид бактерий	абс.		%
	КОЛИЧЕСТВО ШТАММОВ	ВЫДЕЛЕНИЯ	
<i>Fusobacterium spp.</i>	10		7,4
<i>Prevotella intermedia</i>	17		12,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	23		17
<i>Veilonella spp.</i>	29		21,5
<i>Candida albicans</i>	56		41,5

Результаты микробиологического исследования после антисептической обработки кариозной полости

В группе №1 после обработки кариозной полости методом фотодинамической терапии с облучением светом лазера в течение 30 с *Fusobacterium spp.* не были выявлены, процент обнаружения *Prevotella intermedia* снизился в 3 раза, *Enterococcus faecalis* – в 3,5 раза, *Veilonella spp.* в 5, *Candida albicans* – в 8 раз.(рис.3).

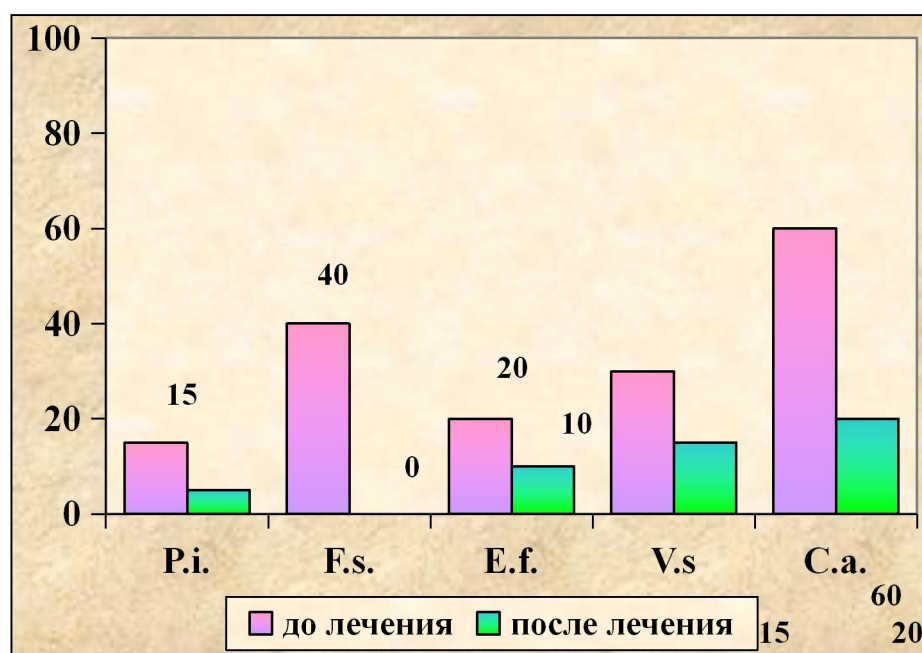


Рис. 3. Данные ПЦР в динамике у пациентов группы №1.

В группе №2, где проводили обработку кариозных полостей методом фотодинамической терапии с облучением светом лазера в течение 60 с анаэробные микроорганизмы в исследованных пробах не были выявлены.

В группе №3 (контрольной) после обработки кариозной полости раствором хлоргексидина частота обнаружения бактерий *Prevotella intermedia* уменьшилась, по сравнению с исходным уровнем, на 5,3%; *Fusobacterium spp.* – на 26,3%; *Enterococcus faecalis* – на 36,9% ; *Veilonella spp.* – на 25,6%; *Candida albicans* – на 38,7%. (рис. 4). Данные показатели значительно уступают показателям групп №1 и №2.

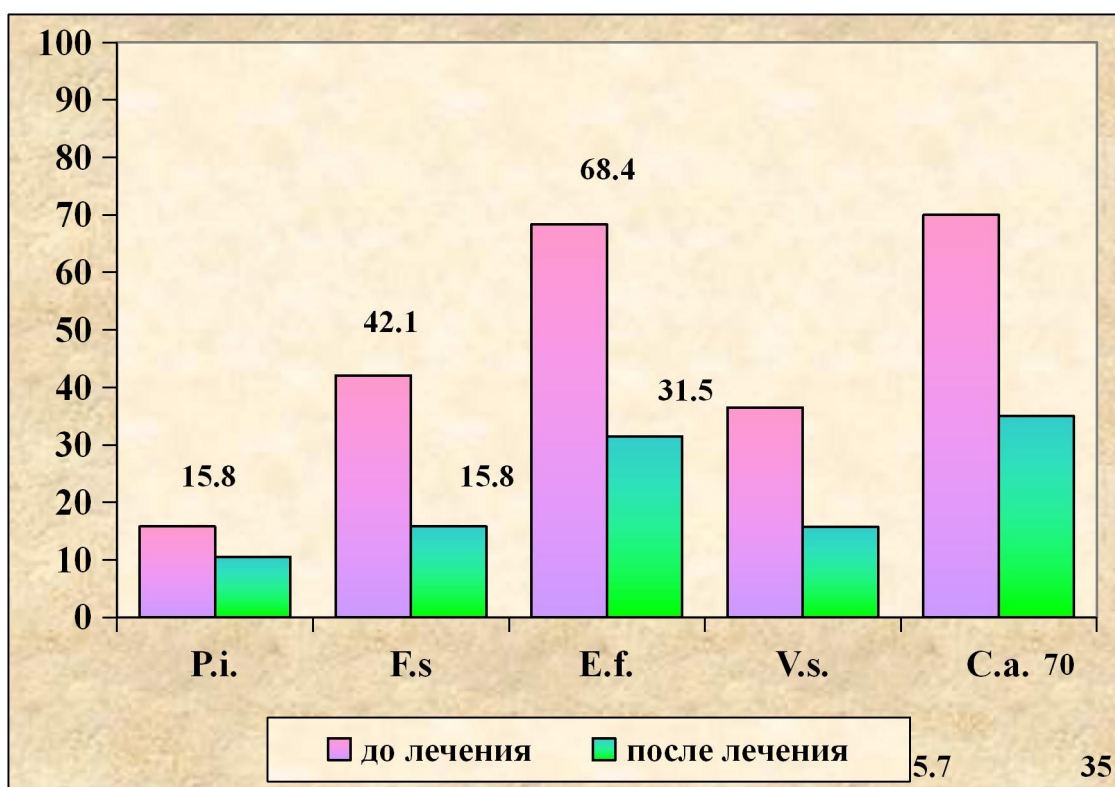


Рис. 4. Данные ПЦР в динамике у пациентов группы №3 (контрольной).

Таким образом, после обработки кариозной полости методом фотодинамической терапии частота обнаружения патогенных анаэробов была значительно меньше, чем после традиционной обработки раствором хлоргексидина. Результаты исследования убедительно демонстрируют, что методика фотоактивируемой дезинфекции успешно уничтожает анаэробные

бактерии при правильном сочетании фотосенсибилизатора и адекватной дозы энергии и контакте как фотосенсибилизатора, так и света с бактериями.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что разработанная нами методика фотодинамической терапии при лечении пациентов с различными формами кариеса является высокоэффективным и патогенетически обоснованным методом лечения, обеспечивающим значительное снижение количества факультативных и облигатных видов микроорганизмов. Это может служить хорошим прогностическим фактором для более длительного срока службы реставраций.

Ведущее значение в развитии кариеса зубов принадлежит кариесогенным стрептококкам к которым, в первую очередь, относят *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*. Для определения воздействия фотодинамической терапии на кариесогенные стрептококки было проведено определение частоты высеваемости и количества стрептококков кариозной полости.

При фоновом исследовании было установлено, что *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* были нами выделены из всех полостей (100%). *Streptococcus mutans* в 69% случаев. Количество *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* колебалось в пределах 10^6 - 10^7 . Титр *Streptococcus mutans* был ниже на 1-2 порядка (таб.3).

Таблица 3

Частота выделения кариозных стрептококков при кариесе дентина

Вид микроорганизмов	Частота выделения штаммов	Титр выделенных штаммов
---------------------	---------------------------	-------------------------

Streptococcus mutans	39 (69%)	10^{5-6}
Streptococcus sanguis	56(100%)	10^{6-7}
Streptococcus salivarius	56(100%)	10^{6-7}

После проведения фотодинамической обработки кариозной полости в течение 30 секунд частота выделения стрептококков и их количество значительно снизилось. Воздействие ФДТ в течение 60 секунд привело к гибели микроорганизмов (таб.4).

Таблица 4

Частота выделения кариенсогенных стрептококков после проведения фотодинамической терапии в течение 30 и 60 секунд.

Вид микроорганизмов	Время воздействия ФДТ в сек.	Частота выделения штаммов	Титр выделенных штаммов
Streptococcus mutans	30	4 (2,2%)	10^3
	60	0	0
Streptococcus sanguis	30	7 (3,9%)	10^{3-4}
	60	0	0
Streptococcus salivarius	30	4 (2,2%)	10^3
	60	0	0

В контрольной группе, где в качестве антисептика для обработки кариозной полости был применен 0,12% раствор хлоргексидина, также отмечено снижение частоты выделения и количества стрептококков, но менее выраженное, чем у пациентов 1 и 2 группы (таб.5).

Таблица 5

Частота выделения кариесогенных стрептококков при кариесе дентина после применения 0,12% р-ра хлоргексидина.

Вид микроорганизмов	Частота выделения штаммов	Титр выделенных штаммов
Streptococcus mutans	19 (10,6%)	10 ⁵
Streptococcus sanguis	21(11,8%)	10 ⁵
Streptococcus salivarius	17(9,5%)	10 ⁵

Результаты проведенных микробиологических исследований свидетельствуют о том, что разработанная нами методика фотодинамической терапии при лечении кариеса является высокоэффективным и патогенетически обоснованным методом лечения, обеспечивающим значительное снижение факультативных и облигатных видов кариесогенных микроорганизмов. Это может служить хорошим прогностическим фактором для более длительного срока службы реставрации зуба.

Клиническое исследование показало, что переносимость фотодинамической терапии была очень хорошей. В процессе лечения не было отмечено побочных действий, аллергических и фототоксических реакций. Пациенты обеих групп (№1 и №2) не испытывали неприятных ощущений ни при нанесении препарата Фотодитазин на стенки кариозной

полости, ни при последующем облучении тканей зуба лазерным светом. Отсутствие болевых ощущений у пациентов в процессе лечения даже при глубоких кариозных поражениях, по-видимому, объясняется тем, что при фотодинамической терапии практически не происходит нагрева окружающих тканей.

Через 14 дней

Обследование пациентов через 14 дней после проведенного лечения показало, что в группе №1 все пломбы были сохранены, не изменены в цвете и краевое прилегание не нарушено. Но при выяснении жалоб было выявлено, что у одного пациента в первые сутки после лечения глубокого кариеса появилась повышенная чувствительность 1 (2,9%) зуба, которая сохранялась в течение нескольких дней.

У пациентов группы №2 по истечении двух недель после лечения жалоб не отмечалось. Форма и цвет реставрации соответствовали восстановленному зубу, тактильный переход между пломбой и тканями зуба отсутствовал.

В группе №3 (контрольной) у 3 пациентов жалобы были связаны с появлением после пломбирования чувствительности 3 (7,5%) зубов на различные раздражители (прием горячей и холодной пищи, чистка зубов, вдыхание холодного воздуха и др.). Клиническая оценка качества проведенного лечения показала, что все пломбы были сохранены, не изменены в цвете, краевое прилегание не нарушено.

Таким образом, через неделю после лечения все реставрации, независимо от метода антисептической обработки кариозной полости, показали отличные результаты по всем клиническим критериям. Однако в группах №1 и №3 пациенты предъявляли жалобы на повышенную чувствительность соответственно 1 (2,6%) и 3 (7,5%) зубов (рис.5), которая появлялась в первые сутки после лечения и сохранялась в течение нескольких дней.

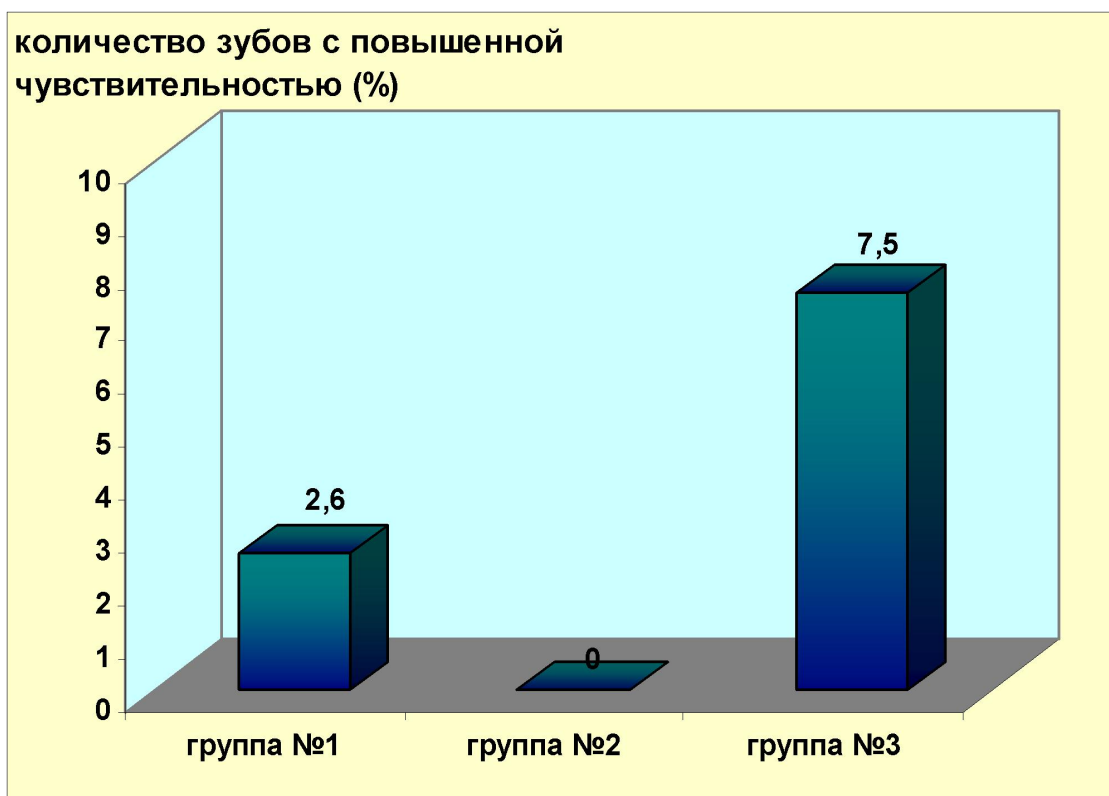


Рис. 5. Количество зубов (в %) с повышенной чувствительностью в ближайшие сроки после проведенного лечения.

Через 6 месяцев

При оценке клинических параметров пломб через 6 месяцев после лечения получили следующие результаты (таблица 6).

В группах №1 и №2, в которых проводилась обработка кариозной полости методом фотодинамической терапии, через 6 месяцев после проведенного лечения пациенты жалоб не предъявляли. Оценка анатомической формы зуба, цвета, шероховатости поверхности и краевой адаптации пломб показала, что все реставрации получили оценку Alpha. Проникновения красителя на границе пломбы и тканей зуба не было выявлено ни в одном случае. Также не отмечалось случаев вторичного кариеса, дефектов и выпадения пломб.

Таблица 6

**Результаты клинической оценки качества пломбирования
через 6 месяцев после лечения**

Критерии оценки Группа	Отсутствие дефектов	Нарушение краевого прилегания	Вторичный кариес	Дефект пломб	Общее количество пломб, требующих замены
1	38 (100%)	-	-	-	-
2	40 (100%)	-	-	-	-
3	38 (95,0%)	2 (5,0%)	-	-	-

При оценке качества пломб у пациентов группы №3 (контрольной) дефектов пломб не выявлено. Сохранность анатомической формы пломб в целом была оценена как отличная. Изменений цвета пломб и восстановленных зубов не обнаружено. Установлено, что основным дефектом в эти сроки являлось незначительное нарушение краевого прилегания (код Bravo), выявленное с помощью окрашивания в 2 (5,0%) случаев.

Через 12 мес

Результаты клинической оценки качества пломбирования через 12 месяцев после лечения приведены в таблице 7.

Анализируя результаты обследования пациентов через 12 месяцев после лечения можно отметить, что количество реставраций, получивших оценку Alpha по всем клиническим критериям, составило в группе №1 – 38 (95,0%), в группе №2 – 37 (97,4%), в группе №3 (контрольной) – 36 (90,0%). Полное отсутствие жалоб со стороны пациентов явилось тому подтверждением.

**Результаты клинической оценки качества пломбирования
через 12 месяцев после лечения**

Критерии оценки Группа	Отсутствие дефектов	Нарушение краевого прилегания	Вторичный кариес	Дефект пломб	Общее количество пломб, требующих замены
1	36 (95,0%)	2 (5,0%)	-	-	-
2	39 (97,4%)	1 (2,6%)	-	-	-
3	36 (90,0%)	4 (10,0%)	-	-	-

Реставраций, имеющих дефект прилегания на границе с твёрдыми тканями зуба, было равно соответственно 2 (5,0%) в группе №1, 1 (2,6%) - в группе №2, 4 (10,0%) - в группе №3 (контрольной) (рис.6). Вторичного кариеса по краю пломб и других дефектов реставраций ни в одной из исследуемых групп выявлено не было.

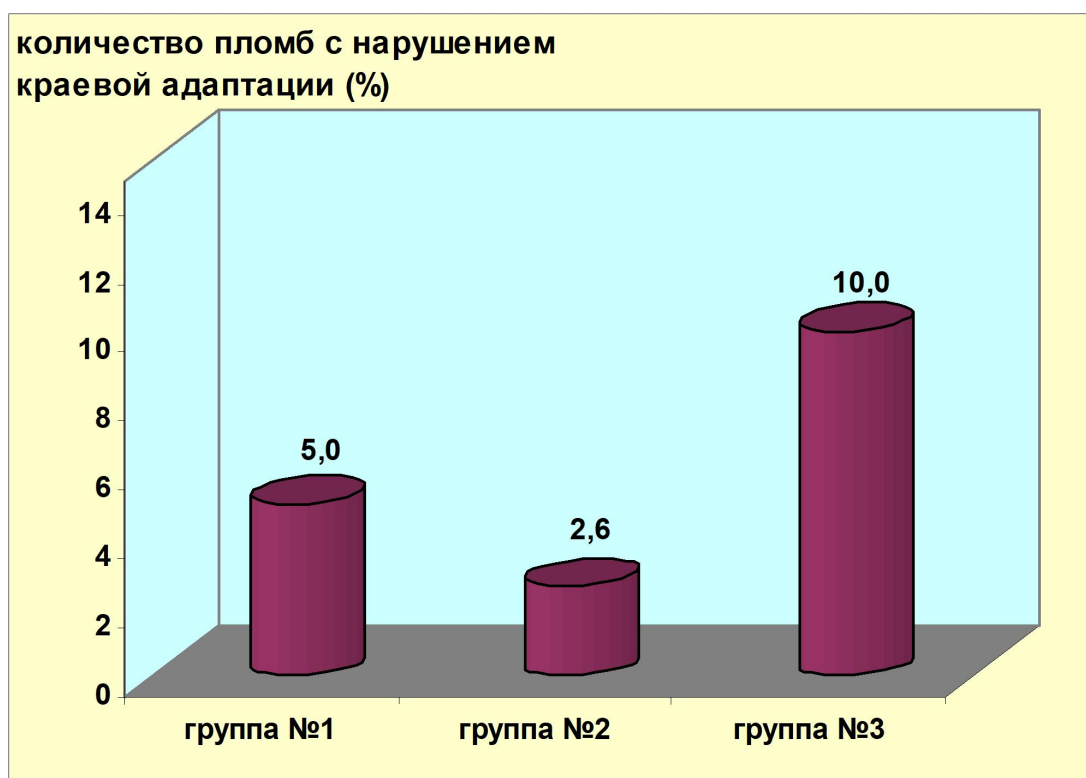


Рис. 6. Количество зубов (в %) с нарушением краевой адаптации реставраций через 12 месяцев после лечения.

Интерпретируя данные клинической оценки качества реставраций и теста витального окрашивания, полученные через 12 месяцев после лечения, можно утверждать, что краевое прилегание пломбировочного материала ухудшается пропорционально срокам наблюдения. Наибольшее количество пломб с дефектами краевой адаптации, а значит и худший результат, получен в контрольной группе. Напротив, наименьший прирост количества неудовлетворительных результатов за весь срок наблюдения зарегистрирован в группах, где проводилась обработка кариозной полости методом фотодинамической терапии.

Через 18 месяцев

Результаты клинической оценки качества пломбирования через 18 месяцев после лечения представлены в таблице 8.

**Результаты клинической оценки качества пломбирования
через 18 месяцев после лечения**

Критерии оценки Группа	Отсутствие дефектов	Нарушение краевого прилегания	Вторичный кариес	Дефект пломб	Общее количество пломб, требующих замены
1	35 (92,1%)	3 (7,9%)	-	-	-
2	38 (95,0%)	2 (5,0%)	-	-	-
3	35 (87,5%)	5 (12,5%)	2 (5,0%)	-	2 (5,0%)

Обследование пациентов через 18 месяцев после лечения показало, что в группе №1 количество реставраций, получивших оценку Alpha по всем клиническим критериям, составило 35 (92,1%), а в 3 (7,9%) случаев с помощью витального окрашивания было выявлено нарушение краевого прилегания пломбы (рис.7). Для более объективной оценки пломб было проведено рентгенологическое исследование зубов. При анализе рентгенограмм признаков вторичного кариеса по краю пломб и под пломбами не обнаружено.

В группе №2 было выявлено 2 (5,0%) реставраций, имеющих дефект прилегания на границе с твёрдыми тканями зуба (код Bravo), остальные 38 (95,0%) пломб по всем критериям соответствовали коду Alpha. Вторичного кариеса по краю пломб и других дефектов реставраций выявлено не было (ни визуально, ни рентгенологически).

Анализируя данные осмотра пациентов в группе №3 (контрольной), было установлено, что соответствие пломб клиническим требованиям

отмечалось в 35 зубах (87,5%), в то время как 5 (12,5%) пломб имели признаки нарушения краевой адаптации, из них в 2 (5,0%) случаях выявлено наличие кариеса вокруг пломбы, что было подтверждено рентгенологически.

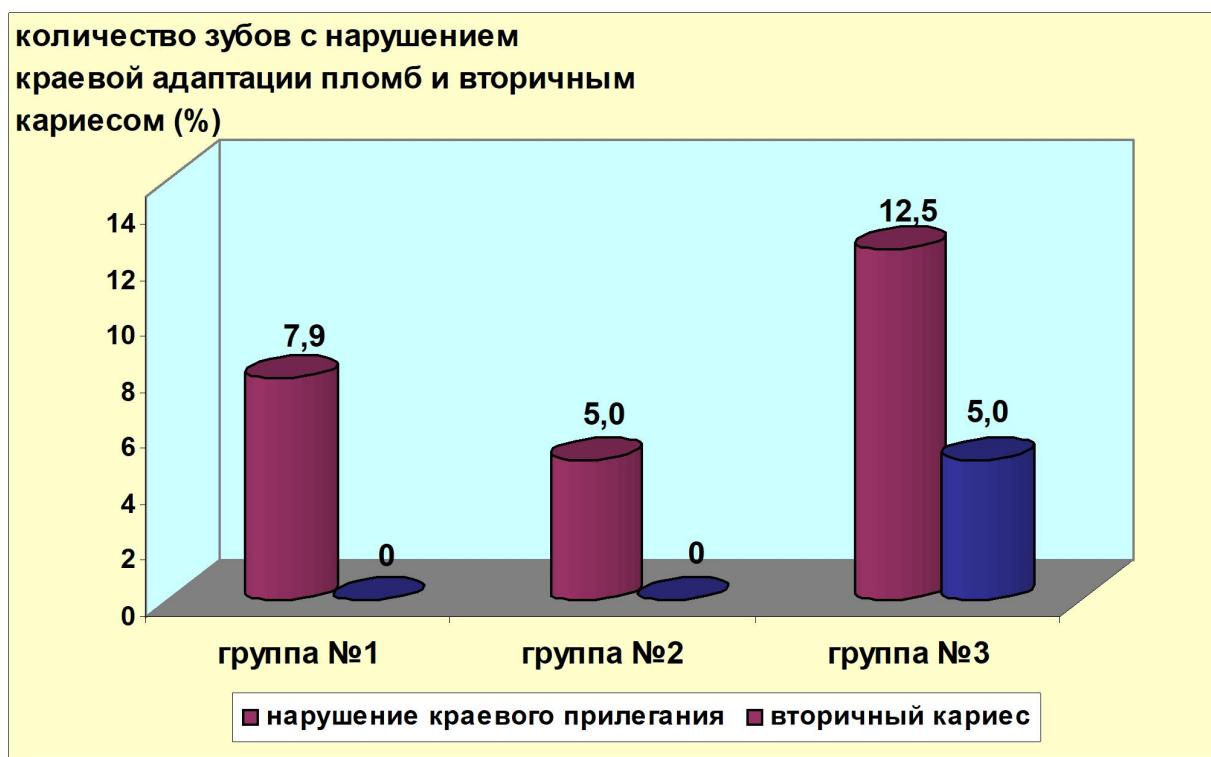


Рис. 7. Количество зубов (в %) с нарушением краевой адаптации пломб и признаками вторичного кариеса через 18 месяцев после лечения.

Таким образом, анализ клинических данных показал, что через 18 месяцев после проведенного лечения лучше всего состояние пломб было в группе №2, практически равные показатели отмечались в группе №1, хуже всего состояние пломб было в группе №3 (контрольной). Важным обстоятельством явилось то, что при выявленных нарушениях краевого прилегания пломб к твёрдым тканям зубов в группах №1 и №2, где проводилась фотодинамическая терапия, не установлено ни одного случая проявлений вторичного кариеса.

Через 24 месяца

Результаты клинической оценки качества пломбирования через 24 месяца после лечения представлены в таблице 9.

Таблица 9

**Результаты клинической оценки качества пломбирования
через 24 месяца после лечения**

Критерии оценки Группа	Отсутствие дефектов	Нарушение краевого прилегания	Вторичный кариес	Дефект пломб	Общее количество пломб, требующих замены
1	34 (89,5%)	4 (10,5%)	-	-	-
2	37 (92,5%)	3 (7,5%)	-	-	-
3	32 (80,0%)	8 (20,0%)	4 (10,0%)	-	4 (10,0%)

Как видно из представленной таблицы, в группе №1 через 2 года после проведенного лечения в 4 (10,5%) случаев было выявлено нарушение краевого прилегания пломбы, а остальные 34 (89,5%) реставраций получили оценку Alpha по всем клиническим критериям (рис.8). При анализе рентгенограмм признаков вторичного кариеса по краю пломб и под пломбами не обнаружено.

В группе №2 было выявлено 3 (7,5%) реставраций, имеющих дефект прилегания на границе с твёрдыми тканями зуба (код Bravo), остальные 38 (92,5%) пломб по всем критериям соответствовали коду Alpha. Вторичного кариеса и дефектов пломб выявлено не было (ни визуально, ни рентгенологически).

При оценке качества пломб в группе №3 дефект краевого прилегания выявлен в 8 (20,0%) случаев. Общее количество случаев вторичного кариеса в этой группе к этому сроку составило 4 (7,5%) наблюдений (рис.6), причем у

1 (2,5%) зуба кариес под пломбой был обнаружен только с помощью рентгенологического исследования. Состояние остальных 32 (80,0%) пломб по всем признакам соответствовало коду Alpha.

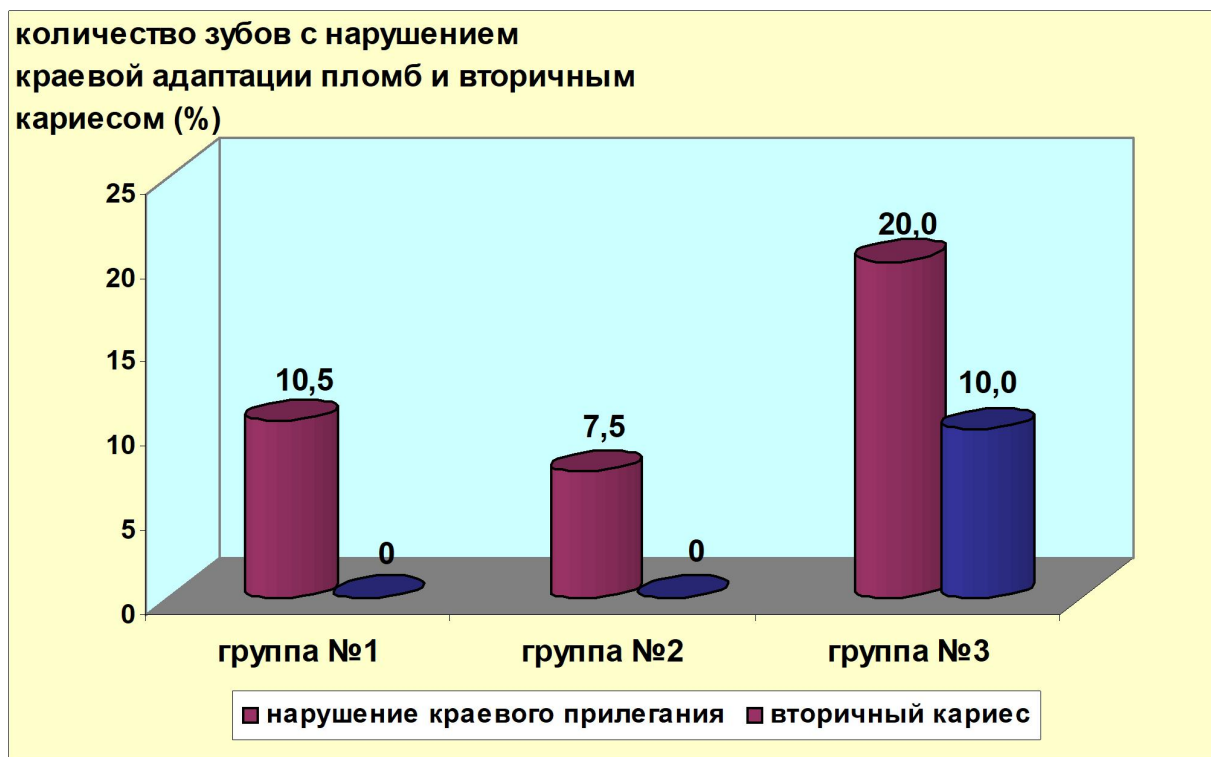


Рис. 8. Количество зубов (в %) с нарушением краевой адаптации пломб и признаками вторичного кариеса через 18 месяцев после лечения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что случаи нарушений краевого прилегания и развитие вторичного кариеса чаще отмечалось при лечении кариеса дентина с использованием традиционной антисептической обработки. Следует заключить, что после препарирования кариозных полостей зубов с кариесом дентина с традиционной антисептической обработкой твердые ткани зуба остаются инфицированными. На основании проведенного исследования можно полагать, что фотодинамическая терапия более эффективно воздействует на инфицированные твердые ткани зуба, что способствует более полной элиминации микроорганизмов, улучшению адаптации пломбировочного материала и предотвращению развития вторичного кариеса.