

А.В. Коршунова, В.И. Макаров, А.В. Рябова, И.Д. Романишкин, О.А. Зорина, Е.К. Кречина, Г.В. Пономарев
 Анализ эффективности фотодинамического отбеливания зубов с использованием фотосенсибилизатора хлорин e_6



АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ОТБЕЛИВАНИЯ ЗУБОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ХЛОРИН E_6

А.В. Коршунова¹, В.И. Макаров², А.В. Рябова², И.Д. Романишкин², О.А. Зорина^{1,3},
 Е.К. Кречина¹, Г.В. Пономарев⁴

¹Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁴Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Резюме

Отбеливание зубов является одной из самых востребованных процедур в эстетической стоматологии. Трудно поддающиеся отбеливанию дисколориты, вызванные изменениями дентина или дефектами эмали, могут быть устранены путем окисления хромогенов с помощью химических агентов, проникающих в эмаль и дентин. В последние годы фотодинамическое отбеливание зубов (ФДОЗ) рассматривается как минимально инвазивный и относительно эффективный по времени метод, при котором не используется перекись водорода, применение которой приводит к повышенной чувствительности зубов. Для ФДОЗ может использоваться фотосенсибилизатор (ФС) хлорин e_6 , обладающий высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода, низкой фототоксичностью, быстрым выведением, с одной стороны, и способностью к фотообесцвечиванию, с другой. В настоящей работе представлены количественные данные исследования эффективности ФДОЗ с хлорином e_6 : изменение цвета для 100 зубов после процедуры, оценка проникновения ФС в ткани зуба, оценка внутритканевой эффективности генерации синглетного кислорода и интенсивности фотообесцвечивания ФС при лазерном воздействии. Статистически установлено, что за одну процедуру ФДОЗ насыщенность цвета зубов (С) изменяется в среднем на 0,5 тона по шкале VITA, а светлота цвета (L) в отдельных случаях повышается более чем на 10 единиц.

Ключевые слова: фотодинамическое отбеливание зубов, фотосенсибилизатор, хлорин e_6 , генерация синглетного кислорода

Для цитирования: Коршунова А.В., Макаров В.И., Рябова А.В., Зорина О.А., Кречина Е.К., Пономарев Г.В. Анализ эффективности фотодинамического отбеливания зубов с использованием фотосенсибилизатора хлорин e_6 // Biomedical photonics. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 19–28. doi: 10.24931/2413-9432-2019-8-3-19-28.

Контакты: Коршунова А.В., e-mail: korshunovaanna.cniis@gmail.com

ANALYSIS OF EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC TEETH BLEACHING WITH THE USE OF PHOTOSENSITIZER CHLORINE E_6

Korshunova A.V.¹, Makarov V.I.², Ryabova A.V.², Romanishkin I.D.², Zorina O.A.^{1,3},
 Krechina E.K.¹, Ponomarev G.V.⁴

¹Federal State Institution Central Research Institute of Dental and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia

²Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³The First Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Teeth whitening is one of the most sought-after procedures in aesthetic dentistry. Discolorites that are difficult to whiten, caused by dentin changes or enamel defects, can be eliminated by oxidizing the chromogens with chemical agents that penetrate to the enamel and dentin. In recent years, the method of photodynamic bleaching (PDB) is considered to be minimally invasive. It does not use hydrogen peroxide that leads to increased sensitivity of teeth, and is relatively effective over time. A convenient solution for PDB would be to use chlorin e_6 .

as a photosensitizer, which has a high quantum yield of singlet oxygen generation, low phototoxicity, rapid elimination, on the one hand, and photobleaching capability, on the other. This paper presents quantitative data on the study of the effectiveness of PDB with chlorine e_6 : color change for 100 teeth after the procedure, chlorine e_6 penetration into the tooth tissues, evaluation of the interstitial efficiency of the generation of singlet oxygen and photobleaching of chlorine e_6 during laser exposure. It has been statistically established that for one PDB procedure, the tooth color saturation (C) varies on average by 0.5 tones on the VITA scale, and the lightness of color (L) in some cases increases by more than 10 units.

Keywords: photodynamic teeth bleaching, photosensitizer, chlorin e_6 , singlet oxygen generation.

For citations: Korshunova A.V., Makarov V.I., Ryabova A.V., Zorina O.A., Krechina E.K., Ponomarev G.V. Analysis of photodynamic teeth bleaching efficiency with the use of photosensitizer chlorine e_6 , *Biomedical photonics*, 2019, vol. 8, no. 3, pp. 19–28. (in Russian) doi: 10.24931/2413–9432–2019–8-3-19-28.

Contacts: Korshunova A.V., e-mail: korshunovaanna.cniis@gmail.com

Введение

С каждым годом эстетическая стоматология становится более востребованной у населения. Одной из основных процедур, позволяющих скорректировать эстетические недостатки зубов, является их отбеливание [1]. Многие виды дисколорита влияют на внешний вид зубов. Причины дисколорита различаются, как и скорость, с которой происходит их удаление [2].

Изменение цвета зубов может быть внешним или внутренним. Внешние пятна обычно возникают в результате скопления хромотогенных веществ на внешней поверхности зуба. Эти пятна локализуются в основном в зубной приобретенной пленке и генерируются либо реакцией Милларда между сахарами и аминокислотами (включает химические перегруппировки и реакции между сахарами и аминокислотами), либо приобретаются в результате удержания экзогенных хромофоров [3]. Химический анализ пятен, вызванных хромотогенной пищей, демонстрирует присутствие фурфуролов и их производных. Большинство внешних зубных пятен можно удалить с помощью стандартных профилактических процедур, которых на сегодняшний день существует большое множество. Одним из таких способов является применение паст с отбеливающим эффектом и других методов, основанных на принципе абразии [4]. Однако со временем такие пятна темнеют и становятся более стойкими, но, как правило, все еще могут подвергаться отбеливанию [5].

Внутренние пятна обычно вызваны более глубокими пятнами или дефектами эмали. Они являются как следствием старения, так и употребления хромотогенной пищи и напитков, табакокурения, приема антибиотиков тетрациклинового ряда, чрезмерного приема препаратов фтора, сильной желтухи в младенчестве, порфирии, микротрещин в эмали, физиологической и патологической стираемости зубов, кариеса зубов и реставрации. В результате старения

и истончения эмали зубов, нижележащие слои дентина имеют тенденцию темнеть из-за образования вторичного дентина, который темнее и непрозрачнее, чем исходный, первичный дентин. Совокупность этих процессов приводит к потемнению зубов.

Избыток фтора в питьевой воде, превышающий 1–2 ppm, может вызывать метаболические изменения в амелобластах, что приводит к дефектам матрикса и неправильной кальцификации зубов [6].

Изменение цвета при приеме лекарств может происходить как до, так и после полного формирования зуба. Тетрациклин включается в дентин во время кальцификации зубов, вероятно, путем хелатирования с кальцием, образуя ортофосфат тетрациклина, который вызывает изменение цвета. Кроме того, внутренние пятна также связаны с наследственными состояниями (например, несовершенный амелогенез и несовершенный дентиногенез) [7]. Кровь, проникающая в дентинные каналы, и металлы, выделяющиеся из зубных реставрационных материалов, также вызывают изменение цвета зубов.

Внутренняя пигментация зубов не может быть удалена с помощью регулярных профилактических процедур. Тем не менее, она может быть устранена путем отбеливания с помощью химических агентов, проникающих в эмаль и дентин для окисления хромофоров [8]. Пятна на зубах, вызванные старением, генетикой, курением или кофе, лучше реагируют на отбеливание [9], сине-серые пятна, связанные с приемом тетрациклина, – хуже [10], а пятна коричневого флюороза – умеренно чувствительны [11].

Активно развиваются методики химического отбеливания, при котором происходит изменение цвета эмали и дентина от темного к светлому благодаря способности активных химических компонентов проходить сквозь эмаль и дентин и проникать во все части зуба, вызывая окислительное расщепление цветных пигментов [12]. Однако такое воздействие имеет

и негативное влияние на эмаль зубов, пульпу и ткани пародонта [13, 14].

Чтобы сократить время отбеливания в клинике, используются различные способы ускорения разложения перекиси водорода, включая химические (например, щелочную pH), физико-химические (например, фотоокисление) и физические (например, нагревание) методы [15, 16]. Перекись водорода является оптически прозрачной в видимом диапазоне спектра, однако может поглощать ультрафиолетовый, средний инфракрасный и дальний инфракрасный свет, что приводит к её разложению. При отбеливании с интенсивными источниками света добавление различных красителей к отбеливающим гелям приводит к улучшению поглощения света в геле и, как следствие, к уменьшению нагрева пульпы зуба. Помимо нагревания геля (фототермический эффект) [17], красители могут также вызывать фотохимические реакции [18].

К источникам когерентного и некогерентного излучения, используемым для катализа процесса отбеливания с перекисью водорода, относятся кварцевые вольфрамовые галогенные лампы, плазменные дуговые лампы, ртутные лампы, светодиоды (LED) и лазеры с различными длинами волн [19–21].

Как правило, пигменты, дающие цвет зубу, это кольцевые молекулы с сопряженными π - π электронными связями. При отбеливании происходит разрушение π - π связей в результате окисления (то есть потери электронов) или других химических реакций, и молекулы приобретают форму разорванного кольца, что приводит к потере их светопоглощающих свойств. Хотя для отбеливания зубов наиболее широко используется перекись водорода, существует большое количество других окислителей (O_2 , HO_2 ; $NaClO$, O_3 , HO). При выборе агентов для отбеливания зубов нужно учитывать их окислительную способность, то есть они должны генерировать активные формы кислорода, которые способны наиболее легко диффундировать в дентин, и при этом быть неагрессивными и нетоксичными [22]. Очень сильным окислителем, способным разлагать органические молекулы, является синглетный кислород (1O_2), однако из-за его высокой реакционной способности он не может храниться, и его использование возможно только при генерации *in situ* по мере необходимости [23].

Метод фотодинамической терапии (ФДТ), основанный на генерации синглетного кислорода фотосенсибилизаторами (ФС) при их облучении специфическими длинами волн, в стоматологии первоначально был представлен антимикробным вариантом, то есть использовался для дезинфекции устойчивых к антибиотикам микроорганизмов, не приводя при этом к их резистентности [24]. Сейчас ФДТ активно используется при лечении кариеса зубов и его осложнений, а также широко применяется в пародонтологии, им-

плантологии, при патологиях слизистой оболочки рта и в челюстно-лицевой хирургии [25, 26]. Наиболее часто используемыми фотосенсибилизаторами в стоматологии являются красители на основе фенотиазина, такие как толуидиновый синий, метиленовый синий и малахитовый зеленый, они фотостабильны, и побочным эффектом их использования может служить незначительное изменение цвета зубов [27].

В последние годы метод фотодинамического отбеливания (ФДОЗ) рассматривается как минимально инвазивный и относительно эффективный по времени, особенно актуально его применение для отбеливания одной из самых трудных группы дисколоритов зубов, вызванных приемом тетрациклиновыми антибиотиками. Самым эффективным для ФДОЗ считается использование лазера на основе кристалла калий титанил фосфата ($KTiOPO_4$, KTP-лазер) совместно с фотосенсибилизатором сульфородаминем В и высокой концентрацией перекиси водорода (Smartbleach® гель, Smartbleach International, Бельгия) [28]. При этом ФДОЗ позволяет достичь большего эффекта за одну процедуру, чем можно ожидать от нескольких месяцев применения отбеливающих капп [29].

Удобным решением для ФДОЗ без использования перекиси водорода, которая приводит к повышенной чувствительности зубов, может служить использование фотосенсибилизатора хлорина e_6 , обладающего высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода, низкой фототоксичностью, быстрым выведением, с одной стороны, и способностью к фотообесцвечиванию, с другой [30]. Ранее в нашем исследовании была изучена динамика накопления хлорина e_6 в составе 1%-ого геля Гелеофор в тканях зуба в зависимости от времени аппликации [31]. Для оценки и выбора оптимальной эффективности ФДОЗ зубов в настоящей работе, кроме клинического наблюдения изменения цвета зубов с помощью спектрофотометра VITA, были определены количественные характеристики проникновения ФС в ткани удаленных зубов, оценена внутритканевая эффективность генерации синглетного кислорода и фотообесцвечивание хлорина e_6 в процессе ФДОЗ.

Материалы и методы

Фотосенсибилизатор

В качестве ФС в исследовании использовался хлорин e_6 – натуральное производное хлорофилла, в составе 1%-ого геля Гелеофор (ООО «Лазер-Медцентр», Россия).

Образцы зубов для исследования

Для проведения лабораторных исследований были использованы зубы фронтальной группы, удаленные по пародонтологическим и хирургическим показаниям. Перед проведением исследований поверхность эмали тщательно очищали с помощью щет-

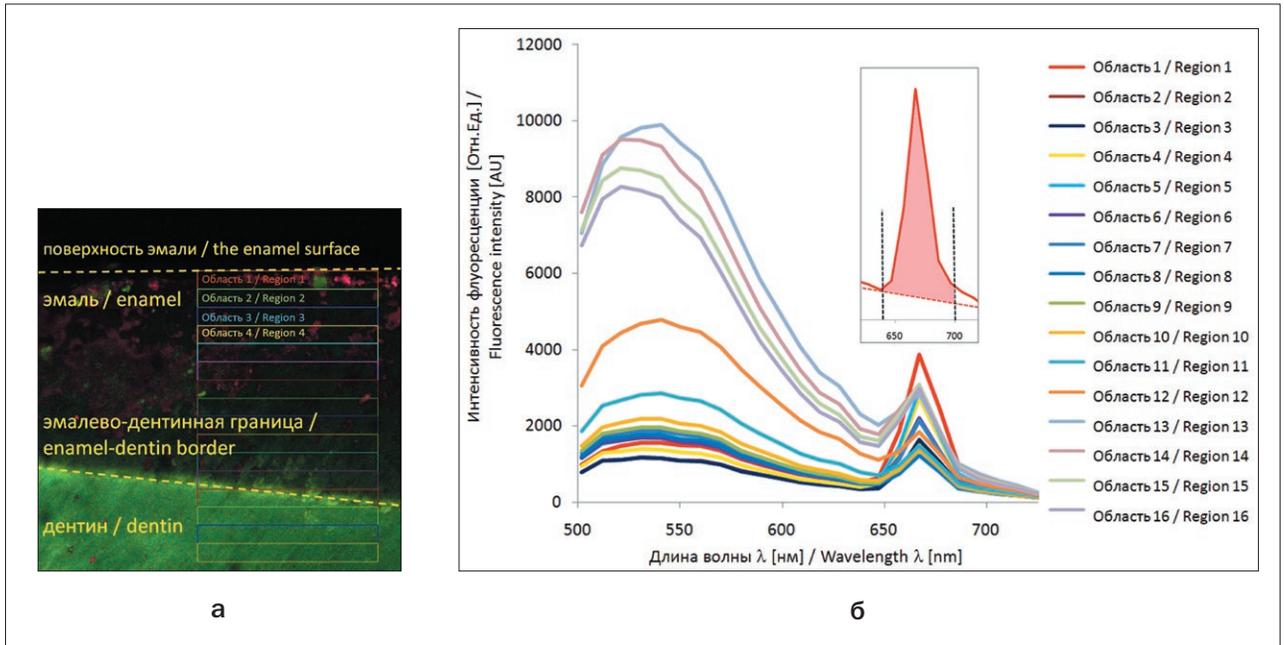


Рис. 1. Спектрально-разрешенное флуоресцентное изображение шлифа зуба, на эмаль которого был апплицирован ФС в течение 1 мин. Изображение получено при возбуждении 488 нм:

а – схема выделения прямоугольных областей на микроскопическом флуоресцентном изображении шлифа зуба для количественной оценки диффузии ФС;

б – спектры флуоресценции с выделенных прямоугольных областей шлифа зуба с шагом 40 мкм вглубь эмали от поверхности. На вкладке закрашена область под пиком флуоресценции хлорина e_6 , которую использовали для построения зависимости интенсивности флуоресценции хлорина e_6 в тканях зуба на глубине от поверхности эмали

Fig. 1. Spectral-resolved fluorescent image of tooth section after 1 minute of photosensitizer application on the enamel. Image taken at 488 nm excitation:

а – a scheme for the selection of rectangular areas on a microscopic fluorescent image on the tooth section for the quantitative assessment of the photosensitizer's diffusion;

б – fluorescence spectra from selected rectangular areas of tooth section with 40 microns step into the depth of the enamel from the surface. On the inset an area under the chlorin e_6 fluorescence peak, which was used to plot the chlorin e_6 fluorescence intensity in the tooth tissue on the depth from the enamel surface, is highlighted

ки и пасты Detatrine-Z (Septodont, Франция). Зубы хранили в дистиллированной воде до начала исследования. С момента удаления зуба до начала исследования проходило не более двух часов. Для оценки накопления хлорина e_6 были взяты как удаленные зубы, так и спилы удаленных зубов фронтальной группы. Всего в исследовании было использовано 100 удаленных зубов фронтальной группы. Оттенки исследуемых зубов по шкале Вита были распределены следующим образом: 78 зубов – оттенки А (красновато-коричневые) и 22 зуба – оттенки В (желтовато-красноватые).

Для определения оптимального времени аппликации ФС, за которое он проникнет в ткани зуба на всю глубину дентина, необходимую для эффективного ФДОЗ, на всю вестибулярную поверхность удаленного зуба с помощью стоматологического браша наносили гель, содержащий ФС, на 1, 5, 10, 20 мин. Далее ФС смывали проточной водой и дискообразным алмазным стоматологическим бором зуб распиливали вдоль вертикальной оси на тонкие спилы.

Исследование распределения ФС в толще зуба при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии

Внутриканальное распределение хлорина e_6 после аппликации геля на эмаль исследовали при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, используя микроскоп LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Для получения изображений применяли объектив Plan-Apochromat с увеличением 10x (апертура 0,3). Для исследования шлифы зубов помещали на покровные стекла толщиной 0,17 мм и наблюдали в плоскости распила. Для возбуждения аутофлуоресценции тканей зуба и флуоресценции хлорина e_6 использовали аргоновый лазер (Lasos Laser GmbH, Германия) с длиной волны 488 нм, детектировали аутофлуоресценцию и флуоресценцию ФС со спектральным разрешением (шаг 10 нм) в диапазоне 500–750 нм. В результате получали спектрально-разрешенное флуоресцентное изображение шлифа зуба. Статистический и спектральный анализы проводили, используя программу ZEN (Carl Zeiss, Германия). Для

количественной оценки диффузии ФС вглубь зуба выделяли на изображении шлифа зуба прямоугольные области на разной глубине от поверхности эмали с высотой прямоугольника 40 мкм и шириной 500 мкм (рис. 1а). Далее в анализе использовали интегральную интенсивность флуоресценции ФС, усредненную по площади этих прямоугольных областей (рис. 1б). Интегральную интенсивность флуоресценции ФС вычисляли из общего спектра флуоресценции путем вычитания «плеча» аутофлуоресценции в области 640–700 нм и интегрирования полученного сигнала по длинам волн (вкладка на рис. 1б).

Исследование генерации синглетного кислорода в толще зуба

Для детекции генерации синглетного кислорода (¹O₂) был использован реагент Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG, Molecular Probes®, США), высоко селективный к ¹O₂ и не реагирующий на другие активные формы кислорода, такие как гидроксил-радикал и супероксид-анион [32]. SOSG обладает слабой флуоресценцией в синем диапазоне с максимумами возбуждения на 372 нм и 393 нм и эмиссии на 395 нм и 416 нм. В присутствии ¹O₂ SOSG начинает флуоресцировать в зеленом диапазоне с максимумами возбуждения и эмиссии 504 нм и 525 нм, соответственно, которые легко детектировать. Шлифы зубов, на эмаль которых апплицировали ФС, в физиологическом растворе с добавлением реагента SOSG подвергали лазерному облучению с длиной волны 633 нм непосредственно сканирующим лазером (то есть ФДОЗ происходило в плоскости распила).

Плотность мощности, создаваемую сканирующим лазерным лучом, выходящим из объектива, в плоскости объекта рассчитывали следующим образом. Пространственное разрешение конфокального микроскопа определяется размером освещенного пятна, ограниченного дифракцией. Размер пятна фокусировки, предполагая равномерное освещение, является функцией длины волны возбуждения (λ_{EX}) и числовой апертуры (NA) объектива:

$$S_{\text{spotsize}} = ((1,22(\lambda_{EX})) / NA$$

Так, для длины волны 633 нм и объектива 10x апертурой 0,3 размер пятна составил 2,6 мкм. Соответственно, площадь круга с таким диаметром – $5,2 \cdot 10^{-8}$ см², а плотность мощности для 5 мВт выходной мощности лазера: 96 кВт/см². Для получения одного изображения лазер совершал сканирование два раза со скоростью 1,27 мкс/пиксель. Таким образом, за время получения одного изображения доза облучения составляла 0,244 Дж/см², а усредненная по времени доза, приходящаяся на время одного сканирования 1064x1064 пикселей равнялась 170 мВт/см², что сопоставимо с плотностью мощности облучения 100 мВт/см² в клинических условиях.

Во время серии сканирований регистрировали флуоресцентные сигналы от ФС и SOSG. Выделяя прямоугольные области на изображении шлифа зуба на разной глубине от поверхности эмали с высотой прямоугольника 40 мкм, получали временные зависимости обесцвечивания фотосенсибилизатора и разгорания флуоресценции SOSG.

Исследование концентрации ФС по спектрам флуоресценции в зависимости от времени аппликации ФС и дозы лазерного облучения при ФДОЗ

Концентрацию ФС в тканях зуба определяли по интенсивности флуоресценции при помощи волоконно-оптического лазерного электронного спектроанализатора ЛЭСА-01-«Биоспек» (ООО «БИОСПЕК», Россия). Собирая диффузно-рассеянный свет от тканей зуба при возбуждении лазерным излучением 633 нм волоконно-оптическим катетером, регистрировали флуоресценцию ФС в контакте с поверхностью эмали и в контакте с поверхностью дентина на спиле зуба.

Исследование влияния дозы светового воздействия ФДОЗ на фотообесцвечивание ФС проводили с использованием светодиодного аппарата «Гармония» (ООО «Лазер-Медцентр», Россия) с длиной волны $\lambda=400 \pm 10$ нм. Плотность мощности излучения составляла 100 мВт/см².

Суммарная световая доза облучения составила 180 Дж/см², что соответствует 30 мин экспозиции. Через 10, 20 и 30 мин от начала светового воздействия измеряли спектры флуоресценции ФС для оценки оставшегося в тканях зубов ФС, расходующегося при ФДОЗ вследствие фотообесцвечивания.

Клиническая оценка цвета зубов после ФДОЗ

Оценку изменения цвета фронтальной группы зубов до и после ФДОЗ определяли с помощью аппарата спектрофотометра VITA Easyshade® V (VITA Zahnfabrik, Германия). Для определения цвета зуба поверхность исследуемой коронковой части зуба очищали и проводили замеры до и после ФДОЗ в режиме усредненного измерения. Торце измерительного наконечника прикладывали плотно и под прямым углом по отношению к поверхности эмали зуба, покрывающей дентин. Регистрировали такие характеристики цвета зуба как светлота цвета (L) и насыщенность цвета (интенсивность или чистота) (C). Светлоту цвета в сравнении с рядом серых тонов определяли в диапазоне от черного (L = 0) до белого (L = 100). Насыщенность цвета (C) – это разница между цветом и серым тоном одинаковой светлоты, измеренная как расстояние от нейтральной оси. По результатам были построены 2D-гистограммы насыщенности (C) и светлоты (L) цвета зубов до и после ФДОЗ. Обработку результатов производили на языке программирования Python 3 методом ядерной оценки плотности распределения с использованием графических библиотек matplotlib и seaborn [33, 34].

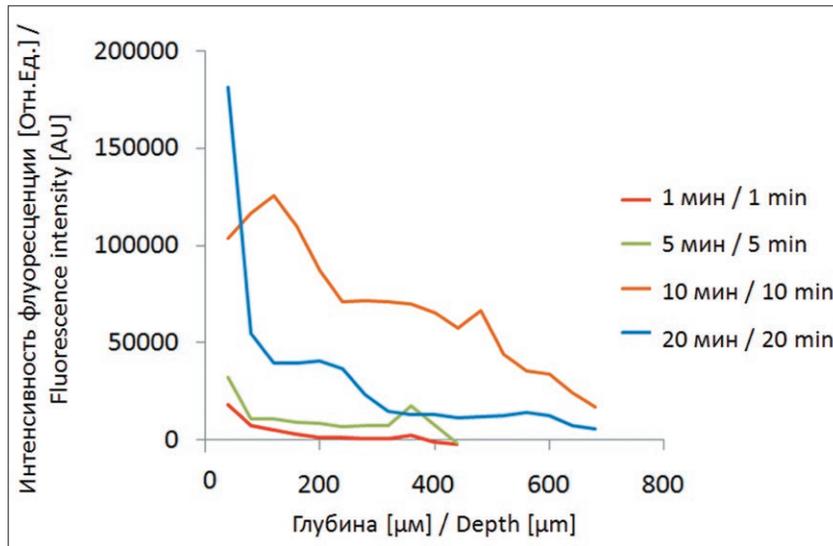


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции ФС на глубине от поверхности эмали при различной продолжительности аппликации ФС
Fig. 2. The photosensitizer fluorescence intensity at the depth from the enamel surface for various application times

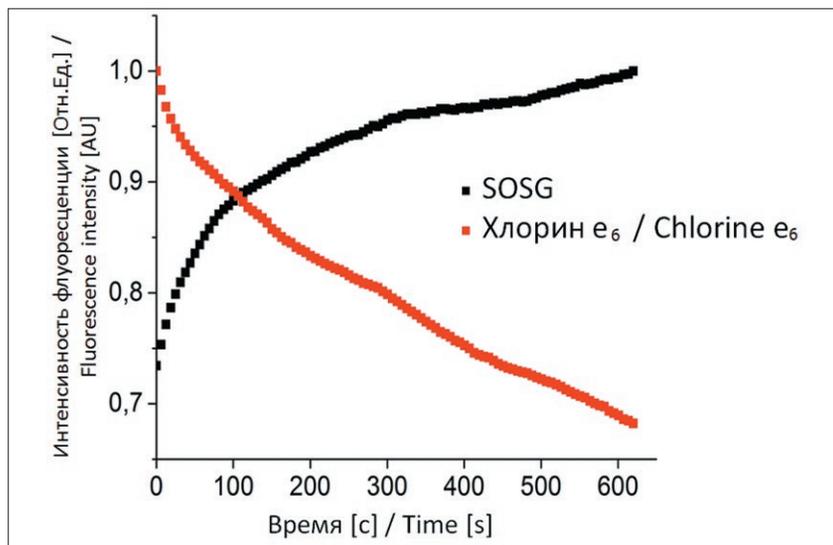


Рис. 3. Зависимость обесцвечивания ФС (красный) и разгорания флуоресценции SOSG (черный) во время ФДОЗ шлифа зуба, усредненное по всей толщине эмали
Fig. 3. The dependence of the bleaching of the photosensitiser (red) and the rise of SOSG fluorescence (black) during PDB of tooth section, averaged over the entire thickness of the enamel

Результаты и обсуждение

По данным флуоресцентной микроскопии были построены зависимости флуоресценции ФС от глубины от поверхности эмали для разных времен аппликации ФС на поверхность эмали (рис. 2).

Самая высокая концентрация ФС наблюдается у поверхности эмали. Далее она плавно уменьшается, что соответствует физическим законам диффузии веществ. Однако на границе эмали и дентина наблюдается небольшое относительное увеличение концен-

трации ФС (у разных зубов граница дентина и эмали находилась на разной глубине). Так же четко прослеживается тенденция увеличения общего присутствия ФС с увеличением времени аппликации ФС.

Получены зависимости обесцвечивания ФС и разгорания сенсора на синглетный кислород SOSG в зависимости от глубины от поверхности эмали на срезе зуба при фотодинамическом отбеливании. Усредненные значения выгорания ФС по всей толще эмали и разгорания сенсора на синглетный кислород

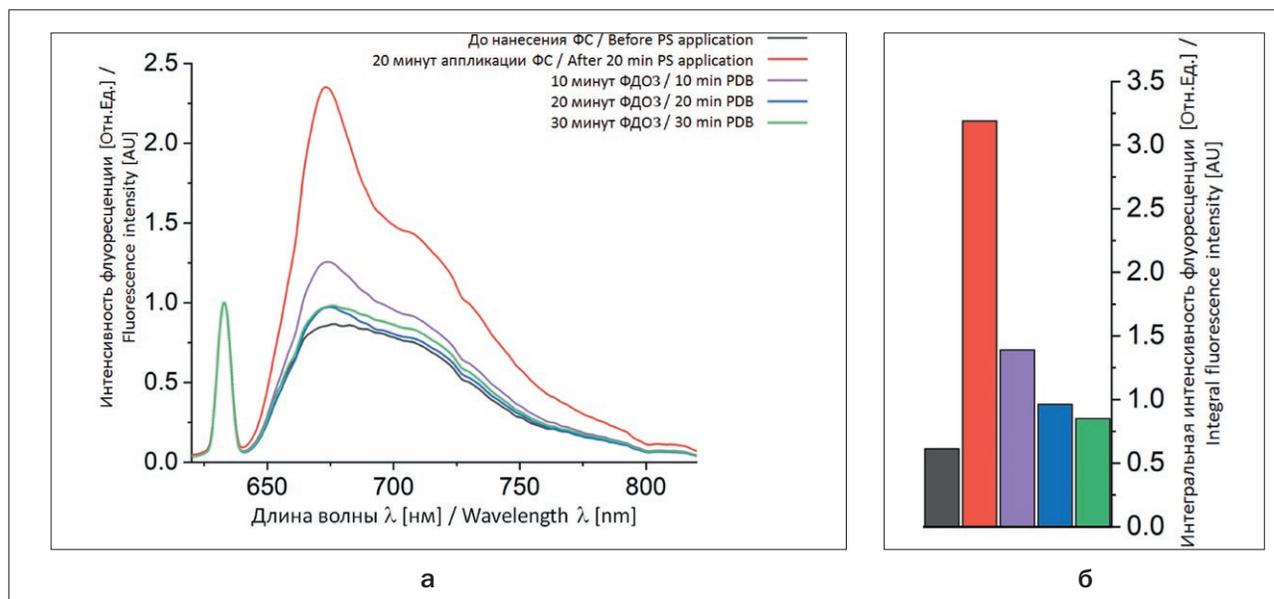


Рис. 4. Спектры флуоресценции зуба до аппликации ФС, сразу после, и спустя каждые 10 мин облучения (а). Интегральная интенсивность флуоресценции от зуба, нормированная на пик лазерного рассеяния (б)
Fig. 4. Fluorescence spectra of the tooth before the photosensitiser application, immediately after, and after every 10 minutes of irradiation (a). Integral fluorescence intensity from the tooth, normalized on the peak of the scattered laser (b)



Рис. 5. Визуальная оценка цвета удаленных зубов до и после процедуры фотодинамического отбеливания в соответствии с классической шкалой Вита
Fig. 5. Visual color matching of the extracted teeth before and after the procedure of PDB using classical Vita scale

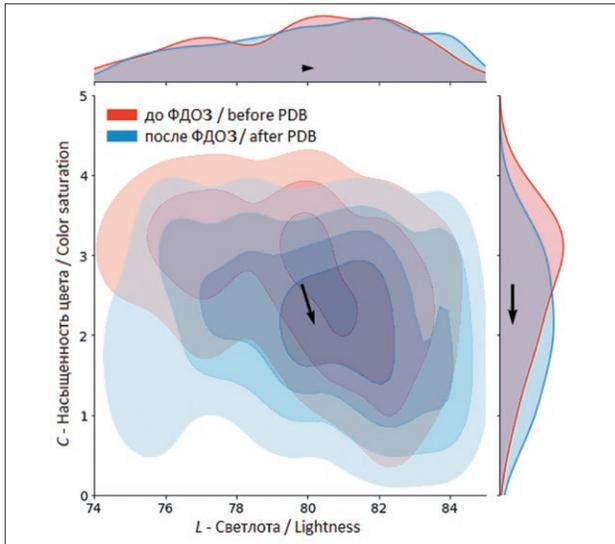


Рис. 6. Статистическое распределение цвета 100 зубов до (розовый) и после (голубой) процедуры фотодинамического отбеливания. Оценка цвета зубов выполнена с использованием спектрофотометра VITA Easyshade® V Вита, приведены данные в координатах насыщенности цвета (С) и светлоты цвета (L). По осям отложены распределения значений С и L до и после процедуры фотодинамического отбеливания. Черной стрелкой представлено усредненное изменение цвета зубов в эксперименте

Fig. 6. The statistical distribution of 100 teeth color before (red) and after (blue) the PDB procedure. Evaluation of the teeth color was performed using a VITA Easyshade® V Vita spectrophotometer; data in the coordinates of color saturation (C) and color lightness (L) are presented. Along the axes, the distributions of C and L values are plotted before and after the photodynamic bleaching procedure. The black arrow represents the average discoloration of the teeth in the overall experiment

представлены на рис.3. Исходя из этих данных, видно, что спустя 10 мин после начала облучения ФС выгорает примерно на треть от начальной концентрации, а флуоресценция сенсора SOSG на синглетный кислород выходит на плато.

Характер выгорания ФС в ткани зуба во время ФДОЗ подтвержден данными флуоресцентного спектроскопического исследования. Так, флуоресценция зуба до аппликации геля с ФС, сразу после и спустя каждые 10 мин облучения, повторяет зависимость интенсивности флуоресценции ФС, полученную на спиле зуба под конфокальным микроскопом (рис. 4).

Внешний вид зубов до и после ФДОЗ в сопоставлении с классической шкалой Вита представлен на рис. 5. Кроме того, в ходе исследований было выявлено, что ФДОЗ происходит эффективнее при периодичном увлажнении эмали во время процедуры. Схожие результаты исследований *in vitro* об усилении эффекта

фотообесцвечивания реставрационных материалов на основе смолы в воде получены в работе [35].

Помимо оценки по классической шкале Вита были получены данные о цвете зубов до и после ФДОЗ с помощью спектрофотометра VITA Easyshade®. Статистически установлено, что за одну процедуру ФДОЗ среднее изменение светлоты цвета (L) составило 0,36 единиц, причем максимальное отбеливание достигало 11,4 единиц, минимальное 4,7. В то же время среднее изменение насыщенности цвета зубов (C) составило -0,5 единиц, максимальное отбеливание произошло на -2 тона, минимальное 0.

Полученные результаты сопоставимы с данными обзора о сравнении результатов отбеливания зубов обычными методами отбеливания и фотоотбеливания [36].

Заключение

Используемый в исследовании ФС (хлорин e_6) с течением времени проникает вглубь тканей зуба (эмали и дентина), что обеспечивает возможность проведения ФДОЗ по всей глубине ткани. При аппликации ФС на поверхность зуба в течение 20 мин, флуоресценция хлорина e_6 была обнаружена как в глубине эмали, так и в дентине. Хотя средняя внутритканевая концентрация ФС уменьшается в зависимости от глубины, тем не менее, она достигает значений, достаточных для проведения эффективного ФДОЗ.

Для достижения значительного эффекта ФДОЗ необходима генерация синглетного кислорода по всей толще эмали и дентина, что было экспериментально доказано с использованием флуоресценции сенсора на синглетный кислород SOSG и фотообесцвечиванию ФС.

Для определения эффективности ФДОЗ были получены объективные данные о цвете зубов до и после фотодинамического отбеливания с помощью шкалы Вита и спектрофотометра VITA Easyshade®. Показано, что среднее изменение светлоты цвета (L) составило 0,36 единиц, а максимальное отбеливание достигало 11,4 единиц. Так же среднее изменение насыщенности цвета зубов (C) составило 0,5 единиц, для отдельных зубов достигая осветления на 2 тона. Таким образом, применение метода ФДОЗ позволяет эффективно проводить эстетическую коррекцию цвета зубов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема «Физические методы в медицине и биологии», № 0024–2019–0003).

ЛИТЕРАТУРА

1. Goldstein R.E, Chu S., Lee E., Stappert C.F.J. Goldstein's Esthetics in Dentistry / 3rd Edition. – Wiley-Blackwell, 2018. –1576 p.

REFERENCES

1. Goldstein R.E, Chu S., Lee E., Stappert C.F.J. Goldstein's Esthetics in Dentistry, 3rd Edition. Wiley-Blackwell, 2018. 1576 p.

2. Jordan R.E., Boksman L. Conservative vital bleaching treatment of discolored dentition // *Compend. Contin. Educ. Dent.* – 1984. – Vol. 5(10). – P. 803–5, 807.
3. Viscio D., Gaffar A., Fakhry-Smith S., Xu T. Present and future technologies of tooth whitening // *Compend. Contin. Educ. Dent.* – 2000. —Suppl. 28. – S. 36–43.
4. Subramanian S., Appukuttan D., Tadepalli A., et al. The Role of Abrasives in Dentifrices // *J. Pharm. Sci. & Res.* – 2017. —Vol. 9(2). – P. 221–224.
5. Goldstein R.E., Garber D.A. *Complete Dental Bleaching* / first ed. – Quintessence Publishing Inc. Chicago, 1995. – P. 165.
6. Dodson D., Bowles W. Production of minocyclines pigment by tissue extracts // *J. Dent. Res.* – 1991. – Vol. 70(Spec Iss). – P.424.
7. Nathoo S.A. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration // *J. Am. Dent. Assoc.* – 1997. – Vol.128(Suppl). – P. 6–10.
8. *Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. An Illustrated Guide* / Edited by Linda Greenwall. 1st Edition. – London: CRC Press, 2001. – 428 p. doi.org/10.3109/9780203417430
9. Haywood V.B. Overview and status of mouthguard bleaching // *J. Esthet. Dent.* – 1991. – Vol.3. – P. 157–161.
10. Leonard R.H., Van Haywood Jr.B., Caplan D.J., Tart N.D. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment // *J. Esthet. Restor. Dent.* – 2003. – Vol.15. – P. 142–152.
11. Haywood V.B., Leonard R.H., Nelson C.F., Brunson W.D. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching // *J. Am. Dent. Assoc.* – 1994. – Vol.125. – P. 1219–1226.
12. Fasanaro T.S. Bleaching Teeth: History, Chemicals, and Methods Used for Common Tooth Discolorations // *J. Esthetic and Restorative Dentistry.* – 1992. – Vol.4(3).– P. 71–78. doi:10.1111/j.1708–8240.1992.tb00666.x
13. Alqahtani M.Q. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review // *Saudi Dent J.* – 2014. – Vol. 26(2). – P. 33–46. doi:10.1016/j.sdentj.2014.02.002
14. Trentino A.C., Soares A.F., Duarte M.A., et al. Evaluation of pH Levels and Surface Roughness After Bleaching and Abrasion Tests of Eight Commercial Products // *Photomed Laser Surg.* – 2015. – Vol.33(7). – P. 372–7. doi: 10.1089/pho.2014.3869.
15. Sulieman M., Addy M., Rees J.S. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching // *J. Dentistry.* – 2003. – Vol. 31(6). – P. 415–422.
16. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature // *J. Dentistry.* – 2006. –Vol. 34(7). – P. 412–419.
17. Verheyen P., Walsh L.J., Wernish J., et al. Laser-assisted bleaching. in *Oral Laser Application.* Chapter 10. / by Moritz A. as ed. –Berlin, Germany: Quintessenz-Verlags-GmbH., 2006. – P. 407–448.
18. Baik J.W., Rueggeberg F.A., Liewehr F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise // *J. of Esthetic and Restorative Dentistry.* – 2001. – Vol. 13(6). – P. 370–378.
19. Sydney G.B., Barletta F.B., Sydney R.B. Invitro analysis of effect of heat used in dental bleaching on human dental enamel // *Brazilian Dental Journal.* – 2002. – Vol.13(3). – P. 166–169.
20. Wetter N.U., Walverde D.A., Kato I.T., Eduardo C.D.P. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation // *Photomedicine and Laser Surgery.* – 2004. – Vol.22(6). – P. 489–493.
21. Zhang C., Wang X., Kinoshita J.-I., et al. Effects of KTP laser irradiation, diode laser, and LED on tooth bleaching: a comparative study // *Photomedicine and Laser Surgery.* – 2007. – Vol. 25(2). – P. 91–95.
22. Frysh H. Chemistry of bleaching/in *Complete Dental Bleaching*, by Goldstein R.E. and Garber D.A. as eds.– Chicago, Ill, USA: Quintessence, 1995. – P. 25–33.
23. Kashima-Tanaka M., Tsujimoto Y., Kawamoto K., et al. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite, *Journal of Endodontics*, 2003, vol. 29(2), pp. 141–143.
2. Jordan R.E., Boksman L. Conservative vital bleaching treatment of discolored dentition, *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 1984, vol. 5(10), pp. 803–5, 807.
3. Viscio D., Gaffar A., Fakhry-Smith S., Xu T. Present and future technologies of tooth whitening, *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 2000, suppl. 28, pp. 36–43.
4. Subramanian S., Appukuttan D., Tadepalli A., Gnana P.P., Victor D.J. The Role of Abrasives in Dentifrices, *J. Pharm. Sci. & Res.*, 2017, vol. 9(2), pp. 221–224.
5. Goldstein R.E., Garber D.A. *Complete Dental Bleaching*, 1st ed. Chicago, Quintessence Publishing Inc, 1995. p. 165.
6. Dodson D., Bowles W. Production of minocyclines pigment by tissue extracts, *J. Dent. Res.*, 1991, vol. 70, pp. 424.
7. Nathoo S.A. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration, *J. Am. Dent. Assoc.*, 1997, vol. 128, pp. 6–10.
8. *Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. An Illustrated Guide*, Edited by Linda Greenwall. 1st edition. London, CRC Press, 2001. 428 p. doi.org/10.3109/9780203417430.
9. Haywood V.B. Overview and status of mouthguard bleaching, *J. Esthet. Dent.*, 1991, vol. 3, pp. 157–161.
10. Leonard R.H., Van Haywood Jr.B., Caplan D.J., Tart N.D. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment, *J. Esthet. Restor. Dent.*, 2003, vol. 15, pp. 142–152.
11. Haywood V.B., Leonard R.H., Nelson C.F., Brunson W.D. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching, *J. Am. Dent. Assoc.*, 1994, vol. 125, pp. 1219–1226.
12. Fasanaro T.S. Bleaching Teeth: History, Chemicals, and Methods Used for Common Tooth Discolorations, *J. Esthetic and Restorative Dentistry*, 1992, vol. 4(3), pp. 71–78. doi:10.1111/j.1708–8240.1992.tb00666.x
13. Alqahtani M.Q. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review, *Saudi Dent J*, 2014, vol. 26(2), pp. 33–46. doi:10.1016/j.sdentj.2014.02.002
14. Trentino A.C., Soares A.F., Duarte M.A., Ishikiriyama S.K., Mondelli R.F. Evaluation of pH Levels and Surface Roughness After Bleaching and Abrasion Tests of Eight Commercial Products, *Photomed Laser Surg*, 2015, vol. 33(7), pp. 372–7. doi: 10.1089/pho.2014.3869.
15. Sulieman M., Addy M., Rees J. S. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching, *J. Dentistry*, 2003, vol. 31(6), pp. 415–422.
16. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature, *J. Dentistry*, 2006, vol. 34(7), pp. 412–419.
17. Verheyen P., Walsh L.J., Wernish J., Schoop U., Moritz A. *Laser-assisted bleaching in Oral Laser Application.* Chapter 10. by Moritz A. as ed. Berlin, Germany: Quintessenz-Verlags-GmbH., 2006. pp. 407–448.
18. Baik J.W., Rueggeberg F.A., Liewehr F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise, *J. of Esthetic and Restorative Dentistry*, 2001, vol. 13(6), pp. 370–378.
19. Sydney G.B., Barletta F.B., Sydney R.B. In vitro analysis of effect of heat used in dental bleaching on human dental enamel, *Brazilian Dental Journal*, 2002, vol. 13(3), pp. 166–169.
20. Wetter N.U., Walverde D.A., Kato I.T., Eduardo C.D.P. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation, *Photomedicine and Laser Surgery*, 2004, vol. 22(6), pp. 489–493.
21. Zhang C., Wang X., Kinoshita J.-I., Zhao B., Toko T., Kimura Y., Matsumoto K. Effects of KTP laser irradiation, diode laser, and LED on tooth bleaching: a comparative study, *Photomedicine and Laser Surgery*, 2007, vol. 25(2), pp. 91–95.
22. Frysh H. Chemistry of bleaching in *Complete Dental Bleaching*, by Goldstein R.E. and Garber D.A. as eds. Chicago, Ill, USA, Quintessence, 1995. pp. 25–33.
23. Kashima-Tanaka M., Tsujimoto Y., Kawamoto K., Senda N., Ito K., Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite, *Journal of Endodontics*, 2003, vol. 29(2), pp. 141–143.

- tion of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite // *Journal of Endodontics*. – 2003. – Vol.29(2). – P. 141–143.
24. Takasaki A.A., Aoki A., Mizutani K., et al. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and periimplant diseases // *Periodontol.* – 2009. – Vol.51. – P. 109–140.
 25. Gursoy H., Ozcakil-Tomruk C., Tanalp J., Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review // *Clin Oral Investig.* – 2013. – Vol. 17(4). – P. 1113–25. doi: 10.1007/s00784-012-0845-7
 26. Макаров В.И., Ахлюстина Е.В., Фаррахова Д.С., Поминова Д.В., Рябова А.В., Лощенов В.Б. Методы фотоники для оценки качества приживления кожных трансплантатов (обзор) // *Biomedical Photonics*. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 30–40.
 27. Costa L.M., Matos F. de S., Correia A.M., et al. Tooth color change caused by photosensitizers after photodynamic therapy: An in vitro study // *J Photochem Photobiol B*. – 2016. – Vol. 160. – P. 225–228. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.019
 28. Bennett Z.Y., Walsh L.J. Efficacy of LED versus KTP laser activation of photodynamic bleaching of tetracycline-stained dentine // *Lasers in Medical Science*. – 2014. – Vol. 30(7). – P. 1823–8. doi: 10.1007/s10103-014-1675-4.
 29. Tsubura S. Clinical evaluation of three months' nightguard vital bleaching on tetracycline-stained teeth using Polanight 10% carbamide gel: 2-year follow-up study // *Odontology*. – 2010. – Vol. 98(2). – P. 134–138. doi:10.1007/s10266-010-0130-7
 30. Juzeniene A. Chlorin e₆-based photosensitizers for photodynamic therapy and photodiagnosis // *Photodiagnosis Photodyn Ther*. – 2009. – Vol. 6(2). – P. 94–6.
 31. Зорина А.О., Кречина Е.К., Абаев З.М. и др. Анализ глубины проникновения геля фотосенсибилизатора в структуру тканей зубов / *Стоматология*. – 2018. – Т. 97, № 6. – С. 22–27.
 32. Flors C., Fryer M.J., Waring J., et al. Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green // *J. Experimental Botany, Oxygen Metabolism, ROS and Redox Signalling in Plants, Special Issue*. – 2006. – Vol. 57(8). – P. 1725–1734.
 33. John D. Hunter. Matplotlib: A 2D Graphics Environment // *Computing in Science & Engineering*. – 2007. – Vol. 9. – P. 90–95. doi:10.1109/MCSE.2007.55
 34. Waskom M., Botvinnik O., O'Kane D., Hobson P., et al. *mwaskom/seaborn: v0.9.0*. – 2018. Available at: <http://doi.org/10.5281/zenodo.1313201>
 35. Buchalla W., Attin T., Hilgers R.-D., Hellwig E. The effect of water storage and light exposure on the color and translucency of a hybrid and a microfilled composite // *The J. Prosthetic Dentistry*. – 2002. – Vol. 87(3). – P. 264–270. <https://doi.org/10.1067/mpr.2002.121743>
 36. Shahabi S., Assadian H., Mahmoudi Nahavandi A., Nokhbatolfoghahaei H. Comparison of Tooth Color Change After Bleaching With Conventional and Different Light-Activated Methods // *J. Lasers Med Sci*. – 2018. – Vol. 9(1). – P. 27–31. doi:10.15171/jlms.2018.07
 24. Takasaki A.A., Aoki A., Mizutani K., Schwarz F., Sculean A., Wang C.Y., Koshy G., Romanos G., Ishikawa I., Izumi Y. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and periimplant diseases, *Periodontol*, 2009, vol. 51, pp. 109–140.
 25. Gursoy H., Ozcakil-Tomruk C., Tanalp J., Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review, *Clin Oral Investig*, 2013, vol. 17(4), pp. 1113–25. doi: 10.1007/s00784-012-0845-7
 26. Makarov V.I., Akhlyustina E.V., Farrakhova D.S., Pominova D.V., Ryabova A.V., Loschenov V.B. Photonic methods for quality evaluation of skin engraftment (review), *Biomedical Photonics*, 2016, vol. 5, no. 3, pp.30–40. (in Russian)
 27. Costa L.M., Matos F. de S., Correia A.M., Carvalho N.C., Faria-E-Silva A.L., Paranhos L.R., Ribeiro M.A. Tooth color change caused by photosensitizers after photodynamic therapy: An in vitro study, *J Photochem Photobiol B*, 2016, vol. 160, pp. 225–228. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.019
 28. Bennett Z.Y., Walsh L.J. Efficacy of LED versus KTP laser activation of photodynamic bleaching of tetracycline-stained dentine, *Lasers in Medical Science*, 2014, vol. 30(7), pp. 1823–8. doi: 10.1007/s10103-014-1675-4.
 29. Tsubura S. Clinical evaluation of three months' nightguard vital bleaching on tetracycline-stained teeth using Polanight 10% carbamide gel: 2-year follow-up study, *Odontology*, 2010, vol. 98(2), pp. 134–138. doi:10.1007/s10266-010-0130-7
 30. Juzeniene A. Chlorin e₆-based photosensitizers for photodynamic therapy and photodiagnosis, *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2009, vol. 6(2), pp. 94–6.
 31. Zorina O.A., Krechina E.K., Abaev Z.M., Korshunova A.V., Ponomaryov G.V., Ryabova A.V., Makarov V.I. Analysis of photosensitizer gel penetration through the teeth structure, *Stomatologiya*, 2018, vol. 97, no. 6, pp. 22–27. (in Russian)
 32. Flors C., Fryer M.J., Waring J., Reeder B., Bechtold U., Mullineaux P.M., Nonell S., Wilson M.T., Baker N.R. Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green, *J. Experimental Botany, Oxygen Metabolism, ROS and Redox Signalling in Plants*, 2006, vol. 57(8), pp. 1725–1734.
 33. John D. Hunter. Matplotlib: A 2D Graphics Environment, *Computing in Science & Engineering*, 2007, vol. 9, pp. 90–95. doi:10.1109/MCSE.2007.55
 34. Waskom M., Botvinnik O., O'Kane D., Hobson P., et al. *mwaskom/seaborn: v0.9.0*. 2018. Available at: <http://doi.org/10.5281/zenodo.1313201>
 35. Buchalla W., Attin T., Hilgers R.-D., Hellwig E. The effect of water storage and light exposure on the color and translucency of a hybrid and a microfilled composite, *The J. Prosthetic Dentistry*, 2002, vol. 87(3), pp. 264–270. doi.org/10.1067/mpr.2002.121743
 36. Shahabi S., Assadian H., Mahmoudi Nahavandi A., Nokhbatolfoghahaei H. Comparison of Tooth Color Change After Bleaching With Conventional and Different Light-Activated Methods, *J. Lasers Med Sci*, 2018, vol. 9(1), pp. 27–31. doi:10.15171/jlms.2018.07