

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
Высшего образования «Российский университет дружбы народов»**

На правах рукописи

Артёмова Оксана Александровна
**Клинико-лабораторное обоснование применения фотодинамической
терапии для профилактики и лечения пациентов с воспалительными
заболеваниями слизистой оболочки рта**

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Москва - 2023

Работа выполнена на кафедре пропедевтики стоматологических заболеваний Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Разумова Светлана Николаевна

Официальные оппоненты:

Копецкий Игорь Сергеевич - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии, декан стоматологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Волков Александр Григорьевич - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры терапевтической стоматологии Института стоматологии Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Ведущая организация: ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «19» апреля 2023 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.022 ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте: <https://www.rudn.ru/resources>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

М.К. Макеева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Заболевания микробной природы по-прежнему занимают лидирующие позиции среди нозологий челюстно-лицевой области и являются одной из наиболее актуальных проблем стоматологии в России. Несмотря на то, что микроорганизмы, с присутствием которых связано развитие воспаления, хорошо изучены и выделены этиологические факторы, а также определены патогенетические механизмы, исследования в данном направлении постоянно продолжаются (Панин А.М., 2019; Дробышев А.Ю., 2018; Сипкин А.М., 2018; Янушевич О.О., 2018; Иванов С.Ю. 2016). В последние годы благодаря применению новых научных подходов и методов удалось добиться существенных успехов в лечении и профилактике воспалительных заболеваний. Наиболее распространенными средствами борьбы с инфекционными заболеваниями бактериальной природы являются антибиотики. Они способствуют резистентности микроорганизмов, влияют на представителей нормальной микрофлоры, вызывают токсические реакции, дисбактериозы и многое другое (Ушаков Р.В., Царёв В.Н., 2019; Привольнев В.В., 2017). Принципы доказательной медицины указывают на то, что лечебные средства должны быть совместимы с макроорганизмом, иметь минимальное количество противопоказаний, быть эффективными, обладать высокой чувствительностью и не вызывать привыкания микроорганизмов к их воздействию. Поэтому ведется активный поиск таких методов и препаратов, которые могли бы отвечать современным требованиям. В этой связи противомикробная фотодинамическая терапия (ФДТ) рассматривается как многообещающий альтернативный подход к резистентным инфекциям и имеет дополнительные преимущества, заключающиеся в том, что она не приводит к селекции антибиотикорезистентных штаммов, обладает высокой эффективностью и минимальной инвазивностью.

В процессе своей жизнедеятельности аэробные бактерии выделяют порфирины (продукты метаболизма дыхания), а анаэробные, наоборот,

используют их в процессе своей жизнедеятельности как фактор роста. В условиях анаэробного метаболизма увеличивается потребление и накопление порфиринов. На этой основе разработаны флюоресцентные методы экспресс диагностики аэробной и анаэробной инфекции, определения ее концентрации в очаге воспаления; методы выбора антимикробных препаратов и оценка их эффективности непосредственно в клинических условиях (Александров М.Т., 2018; Колтова Н.А., 2014). Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности данного исследования.

Степень разработанности темы диссертации

Анализ литературы свидетельствует о необходимости поиска более эффективных средств антисептической обработки и антимикробного воздействия на инфекционные очаги твердых и мягких тканей ротовой полости. Исследования, близкие к теме диссертации, были связаны с поиском не токсичных форм, используемых фотосенсибилизаторов, методов адекватного обезболивания при проведении фотодинамической терапии. Одними из перспективных препаратов, к которым не выявлено привыкания микроорганизмов и которые эффективны при каждом их применении являются препараты, используемые для ФДТ. Однако их новые формы, активируемые вне организма и действующие на весь объем (площадь) микробосодержащего патологического очага в режиме самоактивации (то есть без лазерной активации) не имеют объективного экспериментального обоснования и клинического применения (Янушевич О.О., 2019; Янушевич О.О. 2014; Узденский А.Б., 2010.) Это положение концептуально определило цель и задачи представленной научной работы.

Цель диссертационного исследования

Обоснование применения метода фотодинамической терапии для повышения эффективности профилактики и лечения воспалительных заболеваний полости рта у пациентов с полной потерей зубов, использующих съемные ортопедические конструкции.

Задачи диссертационного исследования:

1. Подобрать фотосенсибилизатор с наибольшим квантовым выходом флуоресценции при облучении, как определяющий фактор фотодинамической терапии, оптимальные параметры амплитудно-спектральных характеристик, установить наиболее подходящие показатели времени и мощности излучения, оценить влияние кислорода на изменение интенсивности флуоресценции хлорофиллсодержащего препарата.

2. Оценить антимикробную эффективность объемной фотодинамической терапии хлорофиллсодержащими препаратами различной концентрации, активированными вне организма низкоинтенсивным лазерным излучением и 3% раствором перекиси водорода, на тест-объектах *Ps. Aeruginosa* и *S. Aureus* in vitro.

3. В эксперименте на животных оценить эффективность применения фотодинамической терапии с использованием хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, с помощью экспресс-метода лазерной флуоресцентной диагностики.

4. Разработать алгоритм клинического применения исследованных диагностических и терапевтических мероприятий для профилактики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями полости рта и оценить эффективность предложенной лечебно-диагностической медицинской технологии.

Научная новизна исследования

1. Впервые установлено, что при использовании хлорофиллсодержащего препарата в концентрации 0,7% в присутствии 3% раствора перекиси водорода зона задержки роста антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa* составляет от 20 до 30 мм.

2. Впервые разработана и объективизирована высокая эффективность лечебно-диагностической медицинской технологии и обоснованы перспективы ее клинического применения. Доказано, что однократное

использование данного алгоритма снижает обсемененность ротовой жидкости и протезных конструкций микроорганизмами в 10 раз у 95% пациентов.

3. Доказана высокая эффективность чувствительности микрофлоры, выделенной из полости рта, к ФДТ с использованием хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма. Установлено сокращение на 6-7 дней сроков заживления очагов воспаления.

4. Впервые разработан способ лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта с применением фотодинамической терапии (Патент № RU 2 700 407 C1 16.09.2019 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость исследования заключается в теоретическом, экспериментальном и клиническом обосновании применения новых лечебно-диагностических технологий для профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта. Обоснована концепция применения лазерной флуоресцентной диагностики гигиенического состояния полости рта у пациентов, использующих полные съемные ортопедические конструкции.

Разработан физико-химический метод ФДТ с применением хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, в присутствии 3% раствора перекиси водорода.

Лабораторными и клиническими исследованиями убедительно доказана возможность и высокая эффективность профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой рта методом ФДТ.

Оформлено и издано методическое пособие по тематике научно-клинической работы.

Методология и методы исследования

Для достижения поставленной цели диссертационной работы проанализированы данные отечественных и зарубежных источников литературы по теме исследования, использованы клинические, экспериментальные, лабораторные и статистические методы.

В лабораторной части проведены: подбор хлорофиллсодержащего фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом флюоресценции; подбор оптимальных параметров амплитудно-спектральных характеристик излучения, времени и мощности; изучено влияние кислорода на интенсивность флюоресценции; микробиологические исследования тест-культуры штаммов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa*, проведен эксперимент на лабораторных животных белых беспородных крысах линии Wistar, массой 250+/-25 граммов.

В клинической части приняли участие 80 пациентов, из них 40 мужчин и 40 женщин, в возрасте от 50 до 70 лет, разделенных на основную группу (n=40) и две группы сравнения 1 (n=20) и 2 (n=20). Разработан алгоритм клинического применения комплексного метода диагностики и профилактики воспалительных заболеваний полости рта на основе ФДТ.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в практической работе врачей-стоматологов клиники ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный, внедрены в учебный процесс на кафедре пропедевтики стоматологических заболеваний МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, на кафедре ортопедической стоматологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Физико-химический метод ФДТ, основанный на активации молекулы фотосенсибилизатора низкоинтенсивным лазерным излучением в присутствии кислорода, высокоэффективен для профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта.

2. Разработанный алгоритм гигиены полости рта и съемных ортопедических конструкций, уменьшает микробную контаминацию полости рта и поверхности зубных протезов, способствует улучшению навыков гигиены у пациентов.

Апробация диссертационного материала

Апробация диссертационного исследования проведена на совместном заседании кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и хирургической стоматологии и ЧЛХ МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (протокол № 03000-36-04/4 от 08. 11. 2022 г.). Результаты исследования доложены на XIII научно-практической конференции молодых ученых «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» в ФГБУ "ЦНИИС и ЧЛХ" Минздрава России (Москва, май 2021г.); на Международной конференции «Chronobiology in Medicine and Sports» в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, декабрь, 2020 г.).

Степень достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций

Достоверность полученных результатов определяется дизайном исследования, соответствующего поставленным задачам, современными экспериментальными, клиническими и статистическими методами, их достаточным репрезентативным уровнем. Клинические исследования проведены в соответствии с принципами доказательной медицины: использованы четкие критерии включения и исключения пациентов, их достаточный объёмом, методы диагностики и лечения, в соответствии с концепцией научно-клинической работы.

Личный вклад автора

Автор принимал участие на всех этапах проведения исследования. Автором самостоятельно проведены систематизация и анализ данных литературы по теме научной работы, на основании чего сформулирована концепция диссертации, разработан план и дизайн исследования. Автор участвовал в подготовке и проведении лабораторных и клинических исследований. Доля личного участия автора в сборе информации, проведении исследований, интерпретации полученных данных – свыше 87%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.7. Стоматология (медицинские науки), а именно п. 7. Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний слизистой оболочки рта. Соответствие содержания диссертационной работы специальности 3.1.7. Стоматология (медицинские науки), по которой она представлена к защите, подтверждается апробацией работы, ее научной новизной и практической полезностью.

Публикации по теме исследования в научной печати

По теме диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ. Из них 2 в международных базах цитирования (1 в Scopus, 1 в Web of Sciene), 5 - в научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и образования РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 2 статьи – в других изданиях, 1 учебное пособие, 1 патент на изобретение (№ RU 2700407 C1 2019 г.)

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование изложено на 139 листах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложений. Диссертация иллюстрирована 28 рисунками и 12 таблицами. Список литературы включает 185 источников, из которых 111 отечественных и 74 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследования.

Настоящее диссертационное исследование включало лабораторный и клинический этапы исследования. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

На лабораторном этапе в соответствии с целями и задачами нашей работы в экспериментальных исследованиях и при клинических наблюдениях использовали различные модели и модификации раман - люминесцентных комплексов. В частности, «*EnSpectr M*», с длинами волн зондирующего излучения 405 нм, 532 нм, 632,8 нм; «*ИнСпектр R532*»; программно-

аппаратный комплекс «ИнСпектр L405», в сочетании с разными типами насадок, предназначенных для измерений жидкостей, твердых образцов.

Лабораторный этап включал в себя подбор хлорофиллсодержащих препаратов, максимально отвечающих требованиям исследования. На базе ФГБУН Института физики твердого тела им. Ю.А. Осипьяна РАН, определялись оптимальные параметры амплитудно-спектральных характеристик, включающих такие значения, как мощность излучения и время регистрации сигнала. Проверялось суждение о том, что без присутствия лазерного облучения кислород не изменяет интенсивность флуоресцентного свечения хлорофиллсодержащего препарата в пробирке. Выбор проводился из 7 предложенных образцов хлорофиллсодержащих препаратов: Хлорофиллин-ОЗ (1), Фотостим (2), Хлорофиллипт (3), Хлорофиллонг (4), Хлорофилл (5), Now жидкий хлорофилл (6), Радахлорин (7).

Лабораторное исследование эффективности ФДТ на текст-культурах антибиотикорезистентных штаммах *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, основывался на диско-диффузионном методе и предполагал ряд последовательных экспериментальных действий в условиях стерильности. Изучалось влияние хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма, в концентрации 0,007%, 0,07%, 0,7% на культуры микроорганизмов. В качестве контроля использовали антибиотик «Цефепим».

Исследование действия хлорофиллсодержащего препарата на очаг воспаления проводилось на базе вивария ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), на животных (крысы линии Вистар) с соблюдением требований нормативно-технических документов, регламентирующих проведение данного вида исследований. Животных n=42 (100%) случайно разделили на 3 группы: 1 – (основная (опытная)) (n=18), 2 - группа контроля (n=6) и 3 – группа (сравнения (n=18)). В условиях стерильности крысам из групп 1 и 3 моделировали воспаление путем подкожной инъекции 0,5 мл суспензии культуры микроорганизмов, предварительно выделенных из ротовой полости человека (10^{7-8} КОЕ/мл по

стандарту мутности McFarland). Животные 2-й группы (контроль) принимали препарат хлорофиллсодержащий в виде питья в концентрации 0,007%. В группе 1 (основной (n=18)) проводили аппликации на кожу, активированным хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,7% с 4-5 дня эксперимента. В группе 2 – (контроль) (n=6) и в группе 3 (сравнения (n=18)) местное лечение не проводилось. Изучали динамику течения и заживления воспалительного процесса, проводя осмотр раневой поверхности в течение 25 суток.

Клинические исследования проводили на базе кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МИ «Российский университет дружбы народов» и в ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный. В исследование включено 80 пациентов, из них 40 мужчин и 40 женщин, в возрасте от 50 до 70 лет, имеющие диагноз по классификации МКБ 10 K08.1 «Потеря зубов, вследствие несчастного случая, удаления или локализованного пародонтита (полная вторичная адентия)». Все пациенты получили полную информацию об исследовании и подписали добровольное письменное согласие на участие. Пациенты для участия в исследовании, были взяты с учетом критериев включения, исключения и не включения. Критерии включения: наличие съемных ортопедических конструкций, полностью адаптированных в полости рта без выраженной фоновой и местной патологии, при неудовлетворительном гигиеническом состоянии полости рта. Срок пользования протезами не менее 2 лет. Критерии не включения пациентов в группы исследования: хронические заболевания органов и систем организма на стадиях суб- и декомпенсации; острые и хронические инфекционные заболевания (вирусной, бактериальной, грибковой природы); нежелание участвовать в исследовании; состояния, затрудняющие продуктивный контакт, такие как психические расстройства, алкоголизм, слепота. Критерии исключения: аллергические реакции на ФДТ (выявлено не было).

Пациенты были разделены на 3 группы: основная и две группы сравнения. В основной группе использовали активированный

хлорофиллсодержащий препарат в концентрациях 0,007% для полоскания полости рта и 0,7% для погружения протезных конструкций. В группе сравнения 1 применяли не активированный хлорофиллсодержащий препарат в концентрации 0,007% для полоскания полости рта и 0,7% для погружения. В группе сравнения 2 хлорофиллсодержащий препарат не использовали. Измерения выполнены на современных аппаратно-программном комплексе «ИнСпектр М».

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами установлено, что для возбуждения молекулы фотосенсибилизатора на аппарате «Инспектр-М» наиболее эффективными являются волны длиной 405 нм мощностью 2,5 мВт, временем экспозиции 50 мс и 637 нм мощностью 170 мВт, временем экспозиции 100 мс. В случае активации препарата в пробирке наилучшее возбуждение достигается при облучении длиной волны 405 нм. Продувание кислорода через хлорофиллсодержащий препарат без облучения лазерным светом не приводит к изменению интенсивности сигнала флуоресценции.

Результаты исследования влияния хлорофиллсодержащего препарата на антибиотикоустойчивые штаммы микроорганизмов показали, что через 24 часа после воздействия ФДТ с активированным хлорофиллсодержащим препаратом в присутствии кислорода, на культуры клинических штаммов *Ps. Aeruginosa* и *S. Aureus* на питательных средах наблюдалось статистически значимая задержка зоны роста микроорганизмов, в то время как антибиотик «Цефепим» не давал результата в отношении *Ps. Aeruginosa*. Наибольшая зона задержки роста (от 20 до 30 мм) отмечалась при дозе лазерного облучения 20 Дж, концентрации препарата 0,7%, в присутствии 3% раствора перекиси водорода. Однако, хлорофиллсодержащий препарат, который не был активирован лазерным излучением в присутствии кислорода, не давал задержки зоны роста как у *Ps. aeruginosa*, так и у *S. aureus*. Таким образом, убедительно доказана высокая бактерицидная эффективность препарата, активированного вне бактериального субстрата (рисунки 2,3).

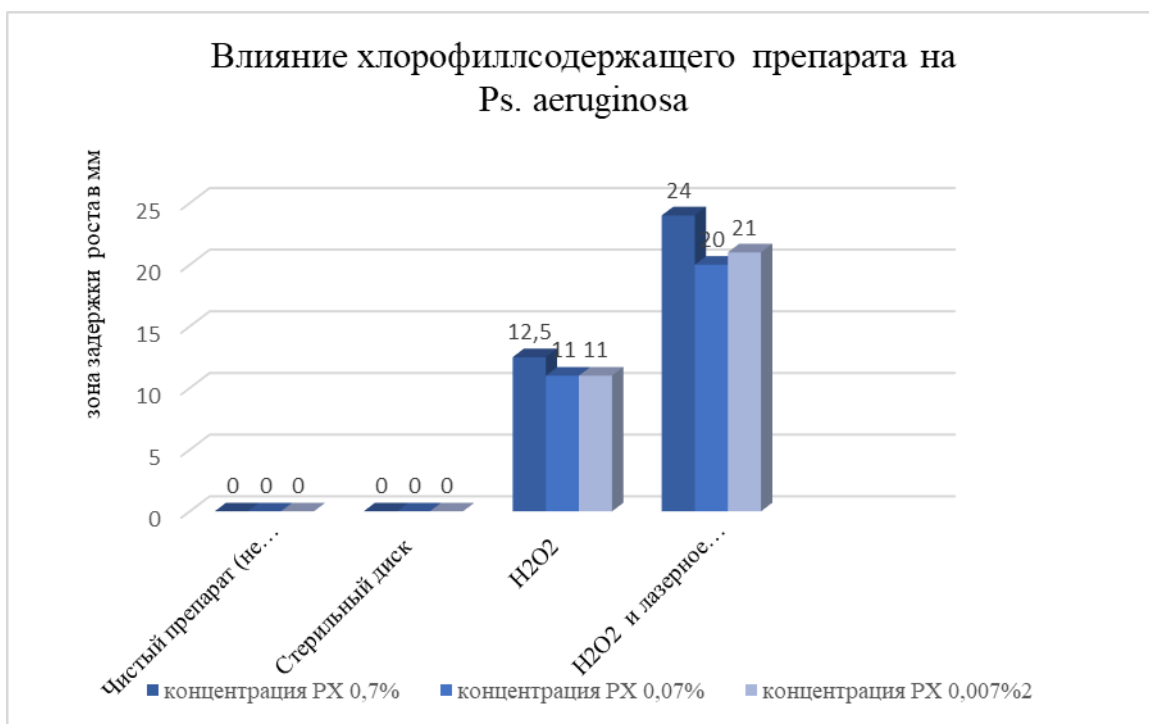


Рисунок 2-Влияние хлорофиллсодержащего препарата на *Ps. Aeruginosa*

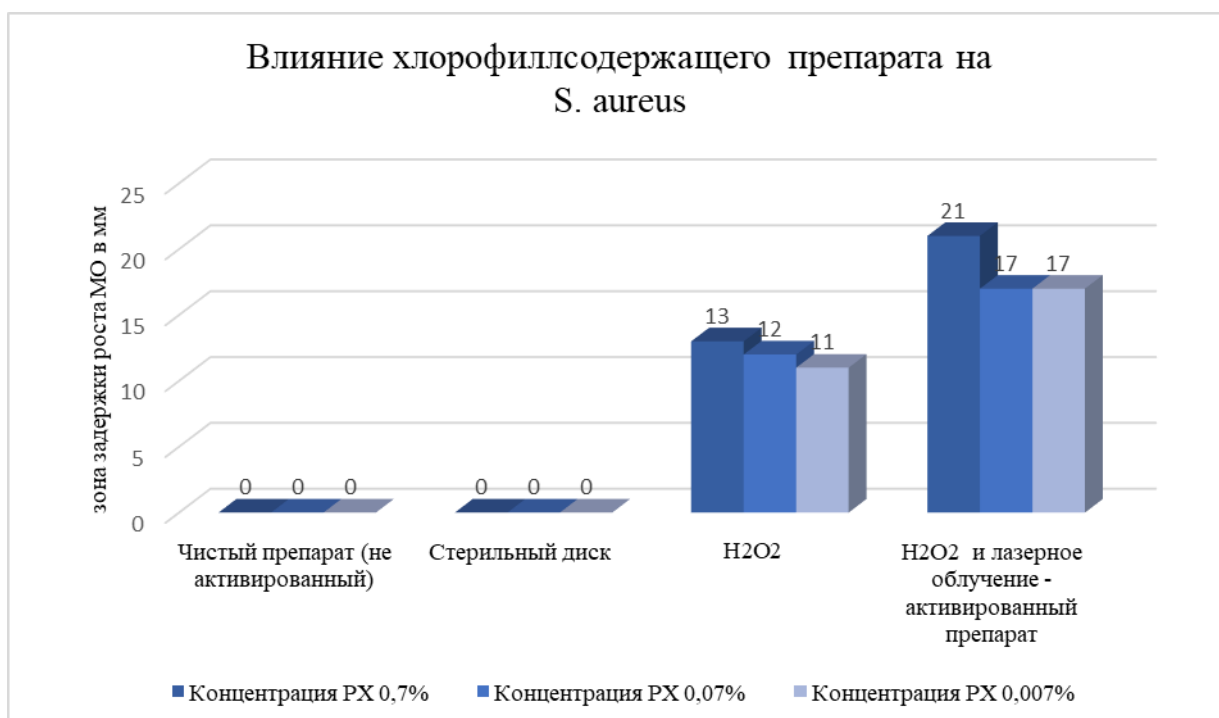


Рисунок 3-Влияние хлорофиллсодержащего препарата на *S. Aureus*

Анализ результатов скорости образования рубцовой ткани у экспериментальных животных показал, что в целом процессы репарации в группе 1 (основной) протекали быстрее, чем в группе сравнения 3.

Практически полное закрытие язвенных дефектов кожных покровов новообразованными тканями в основной группе произошло в среднем на 6 дней раньше, чем в группе 3 (сравнения). При этом на 15 день репаративный процесс был завершен у 10% (n=2) крыс основной группы, в группе сравнения 3 (n=18, 100%) выздоровевших животных не было. На 17 день в основной группе санированными были 30% (n=5) крыс, в группе сравнения 3 (n=18, 100%) выздоровевших животных не было. На 18-19 дни репаративный процесс был завершен у 90% (n=16) особей основной группы и 15% (n=3) крыс группы сравнения 3. На 20 день у 100% (n=18) животных основной группы язвенно-некротические дефекты закрылись рубцовой тканью ($p < 0,05$), в группе 3 (сравнения) у 20% (n=4). На 22 день репаративный процесс в группе 3 (сравнения) завершился у 40% (n=7), на 24 день у 60% (n=11), на 25 день у 90% (n=16), на 26-35 дни у 100% (n=18). Результаты сроков заживления раневой поверхности у крыс в группе 1 (основная) и группе 3 (сравнения) представлены на рисунке 4.

После выведения животных 2 группы (контроль) из эксперимента и забора материала методом ЛФД, измеряли интенсивность флюоресценции и нормировали ее на таковую для тест-объектов, не принимавших препарат. Результаты исследования показали, что максимальное накопление хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, отмечается в костных структурах и паренхиматозных органах. При оральном приеме накопление существенно зависит от концентрации использованного фотосенсибилизатора (ФС), в то время как эффект его внутриклеточной (внутриклеточной) активации практически не зависит от дозы препарата.



Рисунок 4-Сроки заживления раневой поверхности у крыс группе 1 (основная) и группе 3 (сравнения)

Гигиенические мероприятия полости рта по разработанному алгоритму с использованием активированных хлорофиллсодержащих препаратов в течение 6 месяцев показали, что в основной группе обсемененность протезных конструкций и ротовой жидкости после чистки уменьшились в 200 раз, в то время как результаты полугодового динамического наблюдения в группах сравнения 1 и 2 показали снижение в 7,1 и 5,0 раз, соответственно. Статистически значимые различия выявлены между основной группой и группой сравнения 1 ($p < 0,017$), основной группой и группой сравнения 2 ($p < 0,017$), между группами сравнения 1 и 2 ($p < 0,017$). Таким образом, результаты показывают антимикробную эффективность разработанного алгоритма гигиенической обработки протезных конструкций и гигиены полости рта. Методика способствует формированию устойчивых навыков гигиены в основной группе испытуемых. За 6 месяцев динамического наблюдения уровень гигиены вырос в 1,8 раза, что подтверждено статистически при сравнении данных в нулевой точке эксперимента и через 6 месяцев: до чистки ($p=0,0265$), после чистки ($p=0,0156$).

Все результаты объективно подтверждены бактериологическим и ЛФД-методами (рисунки 5,6).

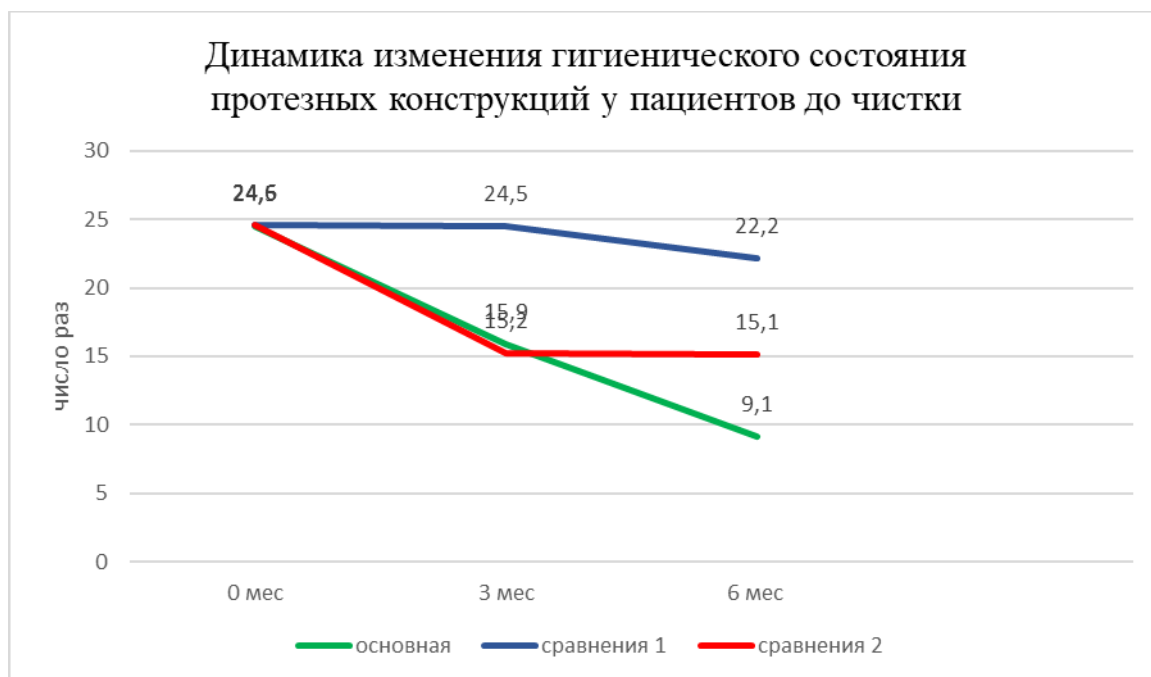


Рисунок 5-Динамика изменения гигиенического состояния протезных конструкций у пациентов до чистки

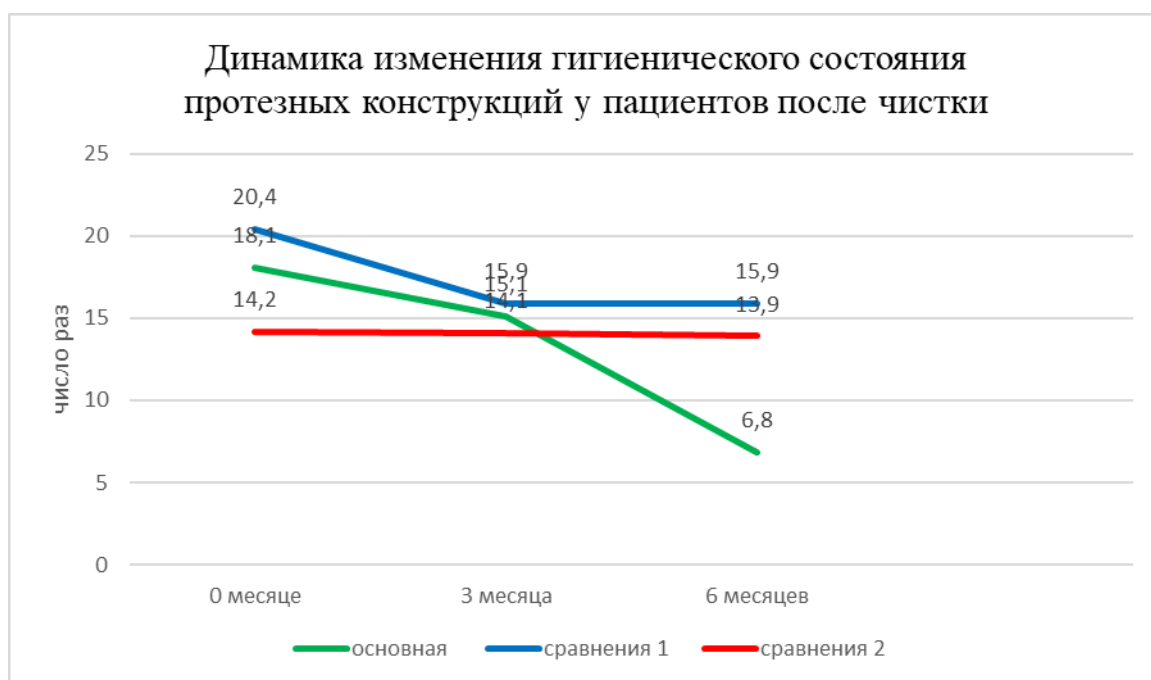


Рисунок 6-Динамика изменения гигиенического состояния протезных конструкций у пациентов после чистки

По результатам осмотра полости рта, анкетирования пациентов, данных динамического наблюдения, установлено, что предъявляли жалобы на

дисгевзию, жжение, зуд, боли и дискомфорт при приеме пищи, которые сочетались с такими клиническими признаками воспаления слизистой рта, как эритема и отеки различной локализации и распространенности (рисунок 7), в группе сравнения 1 (20%) пациента, в группе сравнения 2 $n=5$ (25%). В тоже время у $n=3$ (15%) пациентов группы сравнения 2 отмечали единичные элементы поражения слизистой оболочки рта (К12.1 Другие формы стоматита и К12.3 Оральный мукозит). Слизистая оболочка рта (СОР) у 100% пациентов основной группы на всем протяжении эксперимента оставалась интактной. В результате статистической обработки данных было выявлено, что гигиеническое состояние полости рта влияет на частоту встречаемости воспалительных заболеваний СОР. Применение разработанного алгоритма в течение 6 месяцев предупреждает развитие воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта, что подтверждено статистически. Различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы ($p=0,0052$), различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы ($p=0,0019$), между группами сравнения 1 и 2 различия не отмечались ($p=0,7411$).

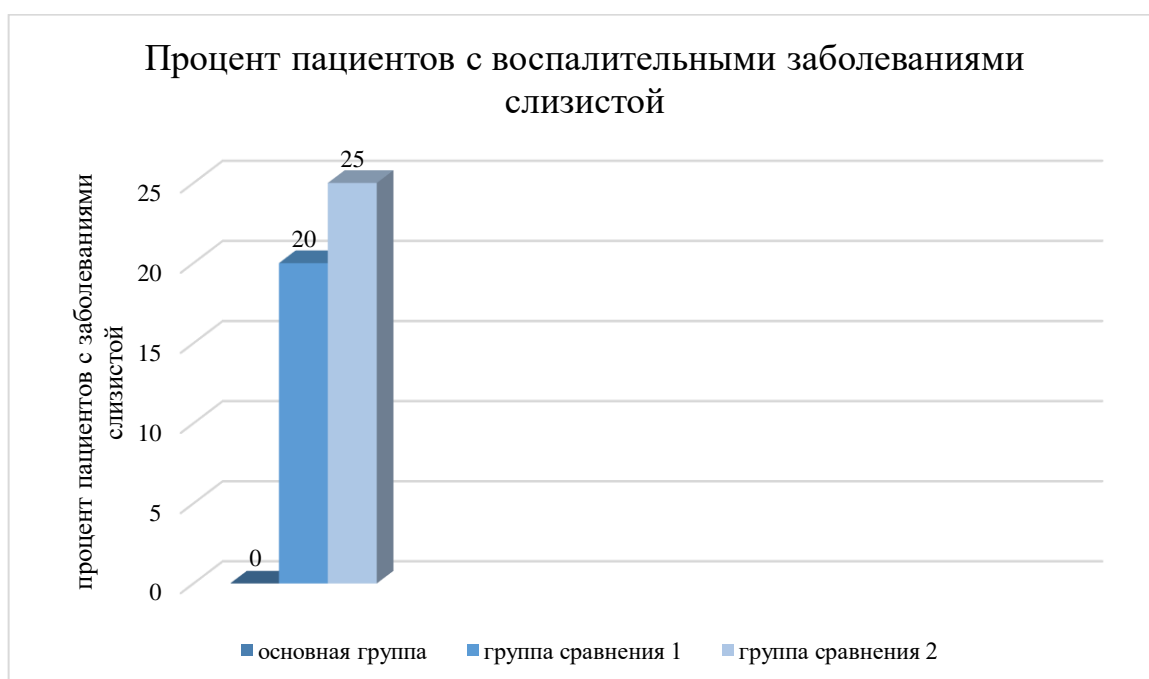


Рисунок 7- Процент пациентов с воспалительными заболеваниями слизистой рта

Разработанная концепция одномоментного комплексного применения фотодинамической терапии, как метода лечения и лазерно-флуоресцентной спектроскопии, как средства диагностики, является эффективной, доступной и современной медицинской технологией. При этом в качестве поставщика молекул фотосенсибилизатора можно использовать хлорофиллсодержащие препараты, активированные лазерным излучением как экстра-, так и интракорпорально в присутствии кислорода.

Данная методика названа нами новационной ФДТ (патент № RU 2700407 С1 2019 г.). Лазерное излучение в диапазоне от 405 до 637 нм, фотосенсибилизатор (хлорофиллсодержащий препарат) и кислородсодержащий препарат (кислород, озон, перекись водорода, оксид азота и др.) при применении в комплексе обеспечивают повышение эффективности объемной активируемой вне организма ФДТ заболеваний и процессов микробной природы в стоматологической клинике.

Изучение методик ФТД является перспективным направлением в стоматологии и требует дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Результаты подбора фотосенсибилизатора из 7 предложенных образцов, показали, что наибольший сигнал флуоресценции и лучший эффект от возбуждения лазерным излучением дают хлорофиллсодержащие препараты Фотостим (РХ2) и Радахлорин (РХ7). На аппарате «Инспектр-М» наиболее эффективными являются волны длиной 405 нм мощностью 2,5 мВт, временем экспозиции 50 мс и 637 нм мощностью 170 мВт, временем экспозиции 100 мс. В случае активации препарата в пробирке наилучшее возбуждение достигается при облучении длиной волны 405 нм. Продувание кислородом хлорофиллсодержащего препарата без дополнительного облучения лазерным светом, не вызывает изменения сигнала флуоресценции.

2. Наибольшая зона задержки роста (20-30 мм) антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa* регистрируется при использовании хлорофиллсодержащего препарата в концентрации 0,7% в присутствии 3% раствора перекиси водорода, эффект сравним с бактерицидным действием антибиотика «Цефепима».

3. В ходе реализации эксперимента с крысами установлено, что сроки заживления гнойно-воспалительной раны, смоделированной путем инъекционного введения смешанной микрофлоры из полости рта человека и пролеченной на основе ежедневных аппликаций активированным вне организма хлорофиллсодержащим препаратом, сокращались на 6-7 дней.

Методом ЛФД объективно показано, что хлорофиллсодержащий препарат при его оральном применении проникает во все органы и ткани, активно накапливается в паренхиматозных органах и костной ткани. Концентрация препарата и выраженность его накопления находятся в прямой зависимости.

4. Разработан алгоритм клинического применения лечебно-диагностической медицинской технологии, для профилактики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями полости рта и подтверждена высокая антимикробная эффективность разработанной лечебно-диагностической медицинской технологии в условиях поликлинического приема. Применение предложенного алгоритма однократно снижает обсемененность полости рта и протезных конструкций микроорганизмами в 10 раз у 95% пациентов. Его использование в течение 6 месяцев предупреждает развитие воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта у 100% испытуемых ($p=0,0052$), ($p=0,0019$), снижает обсемененность микроорганизмами полости рта и протезных конструкций в 200 раз у пациентов 95% ($p < 0,017$), повышает уровень гигиенического состояния в 1,8 раза у 97,5% ($p=0,0265$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности профилактики и лечения заболеваний микробной природы полости рта рекомендовано применение хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма кислородом и низкоинтенсивным лазерным излучением, под контролем лазерно-флуоресцентной диагностики.

2. Ежедневно, после индивидуальной гигиены необходимо полоскать ротовую полость хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,007%. Рекомендовано обрабатывать съемные ортопедические конструкции путем погружения в 0,7% хлорофиллсодержащий препарат, активированный вне организма 1 раз в 3 дня на 5 минут.

3. Врачам-стоматологам с целью обучения и коррекции навыков гигиены, а также оценки эффективности гигиенической обработки съёмных ортопедических конструкций, рекомендовано 1 раз в 6 месяцев проводить ЛФ-диагностику зубных протезов и ротовой жидкости, сравнивая показатели в динамике до и после чистки.

4. В случае выявления высокого ОМЧ рекомендуется повторное обучение мануальным навыкам индивидуальной гигиены, проведение контролируемой чистки съемных ортопедических конструкций, коррекция и контроль со стороны врача выполнения пациентом разработанного алгоритма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных Перечнем РУДН/ВАК РФ:

1. Александров М. Т., В. Н. Олесова, Е. Ф. Дмитриева, Е. Д. Намиот, **О. А. Артемова**, А. Н. Ахмедов, С. Н. Разумова. Проблемные вопросы оценки

- гигиенического состояния полости рта и их клиническое решение. *Стоматология*, 2020; Том 99 (№ 4): 21-26. **(PubMed, Scopus)**
2. Александров М.Т., Дмитриева Е.Ф., **Артемова О.А.**, Ахметов А.Н. Влияние слюны и средств гигиены полости рта на показатели минерализации твердых тканей зуба различных функциональных групп. *Российский стоматологический журнал*, 2019; Том 23 (№3-4):100-105. **(ВАК)**
3. Александров М.Т., Ахметов А.Н., **Артемова О.А.**, Намиот Е.Д. Оценка гигиенического состояния различных протезных конструкций до и после чистки. *Российский стоматологический журнал*, 2019; Том 23 (№3-4):106-111. **(ВАК)**
4. Александров М.Т., Дмитриева Е.Ф., Ахмедов А.Н., **Артемова О.А.**, Потривайло А., Прикуле Д.В. Раман-флуоресцентные характеристики различных анатомо-топографических зон зубов различных функциональных групп. *Российский стоматологический журнал*. 2019; Том 23 (№5):188-191. **(ВАК)**
5. Александров М.Т., Дмитриева Е.Ф., Нуриева Н.С., **Артемова О.А.** Влияние лучевой терапии на минерализацию эмали различных функциональных групп зубов у пациентов со злокачественными новообразованиями ЧЛЮ. *Российский стоматологический журнал*. 2019; Том 23 (№6): 248-253 **(ВАК)**
6. Дмитриева Е.Ф., Александров М.Т., Нуриева Н.С., Ахмедов А.Н., **Артемова О.А.**, Козлова Ю.С., Разумов Н.М. Экспериментальное исследование влияния ионизирующего излучения на минерализацию эмали различных функциональных групп зубов, как возможный этиологический фактор возникновения лучевого кариеса. *Клиническая стоматология*. 2019; № 4 (92). С. 20-23 **(ВАК)**
7. **Патент на изобретение:** Способ лечения опухолевых и воспалительных заболеваний с применением фотодинамической терапии № RU 2 700 407 С1 МПК А61N 5/06 (2006.01), А61К 41/00 (2006.01), А61К 49/00 (2006.01), А61P 31/04 (2006.01) от 16.09.2019 г.

II. Публикации в иных изданиях:

1. Razumova S.N., Aleksandrov M.T., **Artemova O.A.** Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy. World Heart Journal. Том 13. 2021. С. 275-276
2. Aleskandrov M.T., Nikiforova E.D., Ahmetov Ali Asker, **Artemova O.A.**, Razumova S.N., Namiot EDRaman Fluorescent Technologies in Stomatology. Online Journal of Dentistry & Oral Health. 2019-2(2)
3. Alexandrov M.T., Dmitrieva E.F., **Artemova O.A.**, Akhmedov A.N. Research of Influence of Salivary and Oral Cleaning hygiene on Indicators of Mineralization of Hard Tooth tissues of Different Functional Groups. Open Access Journal of Biomedical Science. 2019 - 1(3)
4. Александров М.Т., Утюж А.С., Юмашев А.В., Михайлова М.В., Кукушкин В.И., Дмитриева Е.Ф., **Артемова О.А.**, Дмитриев А.И., Пашков Е.П., Ахмедов А.Н. Лазерные раман-флуоресцентные медицинские технологии в стоматологии - от эксперимента к клинике. – Москва, Издательство Первого Московского государственного медицинского университета имени, И.М. Сеченова, 2020. – 160 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- КОЕ-колоний образующих единиц
 ЛФД- лазерная флуоресцентная диагностика
 МИ-медицинский институт
 МКБ-международная классификация болезней
 МО-микроорганизм(ы)
 ОМЧ-общее микробное число
 РХ-хлорофиллсодинержащие препараты
 СОР-слизистая оболочка рта
 ФДТ-фотодинамическая терапия
 ФС-фотосенсибилизатор

Аннотация диссертации Артемовой Оксаны Александровны «Клинико-лабораторное обоснование применения фотодинамической терапии для профилактики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями слизистой оболочки рта»

Заболевания микробной природы до настоящего времени наносят значительный ущерб здоровью человека и ресурсам здравоохранения в России (Дробышев А.Ю., 2013, 2014; Шулаков В.В., 2013; Сипкин А.М., 2019; Янушевич О.О. 2019). Несмотря на экономический рост нашей страны, повышение уровня жизни населения, несмотря на то, что люди уделяют все больше внимания вопросам гигиены полости рта, а также значительный прогресс в диагностике, лечении и снижении числа грозных осложнений (Zamiri V., 2012; Робустова Т.Г., 2006, 2015; Teoh L. 2021), проблема инфекции в стоматологии до сих пор привлекает особое внимание практикующих специалистов. Так, по данным профессора Е.В. Боровского (2003 год) 80% - 95% зубов, леченных по поводу кариеса и его осложнений, являются источником одонтогенной инфекции, что подтверждено более поздними исследованиями (Бондаренко А.Н., 2015). Органы полости рта имеют небольшие размеры, сложную анатомию, выполняют важные физиологические и психологические задачи, поэтому врачи часто сталкиваются с дилеммой сохранения функции и полного выздоровления, что приводит к неэффективному лечению или даже к полной неудаче. Кроме того, заболевания микробной природы челюстно-лицевой области встречаются у людей всех возрастных групп и категорий. Особенную опасность они представляют у младенцев, пожилых людей, беременных женщин, то есть в тех случаях, когда традиционный терапевтический подход может быть противопоказан. В свою очередь распространение полирезистентных бактериальных штаммов, изменение вирулентности микрофлоры, тяжелые хронические заболевания, иммуносупрессия в анамнезе, затрудняют лечение пациентов и ведут к развитию осложнений (Иванов С.Ю., 2008; Arias-Chamorro V., 2011; Царев В.Н., 2014; Шулаков В.В., 2017).

Принимая во внимание вышесказанное, ведутся поиски комбинированной терапии, основанной на принципиально новых как методических, так и методологических принципах, которые бы повышали эффективность лечения, сохраняя при этом жизнеспособность тканей, и имели минимум побочных эффектов (Дробышев А.Ю., 2012; Тарасенко С.В., 2015, 2018; Сипкин А.М., 2018; Янушевич О.О., 2018). Разрабатываемые средства должны отвечать современным требованиям и быть малоинвазивными, высокоизбирательными, малотоксичными, а главное совместимыми с макроорганизмом.

В этой связи мы предлагаем использовать фотодинамическую терапию ротовой инфекции с активацией хлорофилсодержащего препарата вне организма, при самозапускаемом интракорпоральном его антимикробном действии в патологическом объекте, что является принципиально новой концепцией и методикой применения.

Abstract of the dissertation of Artemova Oksana Alexandrovna "Clinical and laboratory substantiation of the use of photodynamic therapy for the prevention and treatment of patients with inflammatory diseases of the oral mucosa"

Microbial diseases still cause significant damage to human health and health resources in Russia (Drobyshev A.Yu., 2013, 2014; Shulakov V.V., 2013; Sipkin A.M., 2019; Yanushevich O.O. 2019). Despite the economic growth of our country, an increase in the standard of living of the population, despite the fact that people are paying more and more attention to oral hygiene, as well as significant progress in the diagnosis, treatment and reduction of the number of serious

complications (Zamiri B., 2012; Robustova T.G., 2006, 2015; Teoh L. 2021), the problem of infection in dentistry still attracts the special attention of practitioners. Thus, according to Professor E.V. Borovsky (2003) 80% - 95% of teeth treated for caries and its complications are a source of odontogenic infection, which is confirmed by later studies (Bondarenko A.N., 2015). The organs of the oral cavity have small sizes, complex anatomy, perform important physiological and psychological tasks, so doctors often face the dilemma of preserving function and full recovery, which leads to ineffective treatment or even complete failure. In addition, diseases of the microbial nature of the maxillofacial region occur in people of all age groups and categories. They are particularly dangerous in infants, the elderly, pregnant women, that is, in cases where the traditional therapeutic approach may be contraindicated. In turn, the spread of polyresistant bacterial strains, changes in the virulence of the microflora, severe chronic diseases, immunosuppression in the anamnesis, complicate the treatment of patients and lead to the development of complications (Ivanov S.Yu., 2008; Arias-Chamorro B., 2011; Tsarev V.N., 2014; Shulakov V.V., 2017).

Taking into account the above, the search is underway for a combination therapy based on fundamentally new both methodological and methodological principles that would increase the effectiveness of treatment, while maintaining the viability of tissues, and have a minimum of side effects (Drobyshev A.Yu., 2012; Tarasenko S.V., 2015, 2018; Sipkin A.M., 2018; Yanushevich O.O., 2018). The developed tools must meet modern requirements and be minimally invasive, highly selective, low-toxic, and most importantly compatible with the macroorganism.

In this regard, we propose to use photodynamic therapy of oral infection with the activation of a chlorophyll-containing drug outside the body, with its self-starting intracorporeal antimicrobial action in a pathological object, which is a fundamentally new concept and method of application.