

Fotodinamska terapija

Kociper, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:387392>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Nikolina Kociper

FOTODINAMSKA TERAPIJA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Rad je ostvaren na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivona Bago (Zavod za endodonciju i restaurativnu stomatologiju)

Lektor hrvatskog jezika: mag.educ.philol.croat. Katarina Šatalić

Lektor engleskog jezika: mag.educ.philol.angl.i mag.paed. Petra Milardović

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. _____
2. _____
3. _____

Datum obrane rada: _____

Rad sadrži: 37 stranica

3 tablice

4 slike

CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala

Zahvaljujem svojoj mentorici doc.dr.sc. Ivoni Bago na pomoći, uloženom vremenu i strpljenju te stručnim savjetima tijekom pisanja diplomskog rada.

Veliko hvala prvenstveno mojim roditeljima, ali i cjelokupnoj obitelji koji su mi omogućili ovo školovanje i bili bezuvjetna potpora na ovom putu uglavnom punom uspona, ali i ponekih padova.

Hvala svim mojim prijateljima na nezaboravnim studentskim danima, a posebno hvala Vici, mojoj najvećoj podršci u ovih šest godina.

FOTODINAMSKA TERAPIJA

Sažetak

Ispiranje korijenskih kanala neizostavna je faza endodontskog liječenja zuba. Međutim, konvencionalne tehnike ispiranja ne mogu ukloniti bakterijski biofilm i inficirani debrisi iz nepristupačnih i složenih dijelova endodontskog prostora zuba. Zbog toga je posljednjih nekoliko godina razvijen čitav niz različitih sustava aktivacije irigansa u korijenskom kanalu, koje za cilj imaju stvaranje turbulentnog i dinamičnog protoka irigansa kroz kanal. 90-ih godina prošlog stoljeća započnje klinička primjena lasera u dezinfekciji endodontskog prostora zuba. Djelovanje lasera u korijenskom kanalu ovisi o vrsti lasera, laserskim parametrima i o tome djeluje li laserska zraka direktno ili preko nekog medija na intrakanalni dentin.

PDT se temelji na interakciji fotoosjetljivog antibakterijskog sredstva i izvora svjetlosti. Spajanjem aktiviranog fotoaktivatora s molekularnim kisikom nastaje atomarni kisik koji direktno uništava DNA i stijenku mikroorganizama. Zbog izravnog djelovanja, mikroorganizmi na ovakvu vrstu terapije ne mogu razviti rezistenciju.

Cilj ovog rada je prikazati postojeću literaturu o PDT-i, objasniti njeno djelovanje i primjenu te predstaviti rezultate dosadašnjih istraživanja o učinkovitosti ovog oblika terapije u endodontskom liječenju zuba.

Prema dosadašnjim istraživanjima, PDT je pokazala bolju učinkovitost na planktonske stanice u korijenskom kanalu u odnosu na bakterije u biofilmu, a isto tako G⁺ bakterije bile su osjetljivije od G⁻. Klinička istraživanja su dokazala da primjenom PDT-e nakon standardnog protokola ispiranja kanala dodatno smanjujemo broj bakterija u korijenskom kanalu.

Može se zaključiti da se zbog jednostavnosti uporabe, nepostojanja kontraindikacija za primjenu, načina djelovanja na koje mikroorganizmi ne mogu stvoriti rezistenciju te nedokazanih štetnih utjecaja za pacijente, PDT može koristiti kao pomoćno sredstvo u dezinfekciji korijenskih kanala nakon konvencionalnog protokola ispiranja.

Ključne riječi: fotodinamska terapija; PDT; fotoaktivator; atomarni kisik; endodoncija

PHOTODYNAMIC THERAPY

Summary

Root canal irrigation is an indispensable step in endodontic dental treatment. However, conventional irrigation techniques cannot remove bacterial biofilm and infected debris from inaccessible and complex parts of the tooth endodontic space. Therefore, a number of different irrigation activation systems in the root canal have been developed in the last few years, with the aim of creating a turbulent and dynamic flow of irrigants through the canal. In the 90s of the last century, the clinical application of lasers in the disinfection of the endodontic space of the tooth began. The action of the laser in the root canal depends on the type of laser, the laser parameters and whether the laser beam acts directly or through some medium on the intracanal dentin.

PDT is based on the interaction of a photosensitive antibacterial agent and a light source. The activated photoactivator combines with molecular oxygen to form atomic oxygen that directly destroys DNA and the wall of microorganisms. Due to the direct action, microorganisms can not develop resistance to this type of therapy.

The aim of this study is to present the existing literature of PDT, explain its impact and use, and present the results of previous research on the effectiveness of this therapy in endodontic treatment.

According to previous research, PDT showed better efficiency on planktonic cells in the root canal compared to bacteria in the biofilm, and also G + bacteria were more sensitive than G-. Clinical studies have shown that applying PDT after a standard canal irrigation protocol further reduces the number of bacteria in the root canal.

It can be concluded that due to the simplicity of use, lack of contraindications, mode of action on which microorganisms cannot create resistance and unproven adverse effects on patients, PDT can be used as an aid in root canal disinfection after conventional rinsing protocol.

Keywords: photodynamic therapy; PDT; photosensitizer; atomic oxygen; endodontics

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OSNOVE FOTODINAMSKE TERAPIJE.....	4
2.1. Mehanizam djelovanja fotodinamske terapije.....	5
2.2. Vrste fotoaktivatora.....	7
2.3. Izvori svjetla za fotodinamsku terapiju	9
2.4. Vrijeme zračenja i doze zračenja kod fotodinamske terapije.....	11
2.5. Utjecaj fotodinamske terapije na bakterije.....	13
3. INDIKACIJE ZA PRIMJENU FOTODINAMSKE TERAPIJE U DENTALNOJ MEDICINI	14
4. FOTODINAMSKA TERAPIJA U ENDODONCIJI.....	16
4.1. Rezultati dosadašnjih znanstvenih <i>in vitro</i> istraživanja o učinkovitosti fotodinamske terapije u endodonciji	17
4.2. Rezultati dosadašnjih kliničkih istraživanja o učinkovitosti fotodinamske terapije u endodonciji	20
4.3. Ograničenja fotodinamske terapije u endodontskom liječenju	24
5. RASPRAVA	26
6. ZAKLJUČAK.....	29
7. LITERATURA	31
8. ŽIVOTOPIS.....	36

Popis skraćenica

BS – bakterijska suspenzija

DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) – deoksiribonukleinska kiselina

LED (engl. *light emitting diodes*) – svjetleća dioda

LPS – lipopolisaharidi

MB (engl. *methylene blue*) – metilensko modriilo

PDT (engl. *photodynamic therapy*) – fotodinamska terapija

PS (engl. *photosensitizer*) – fotoaktivator

TBO (engl. *toluidine blue O*) – toluidinsko modriilo O

1. UVOD

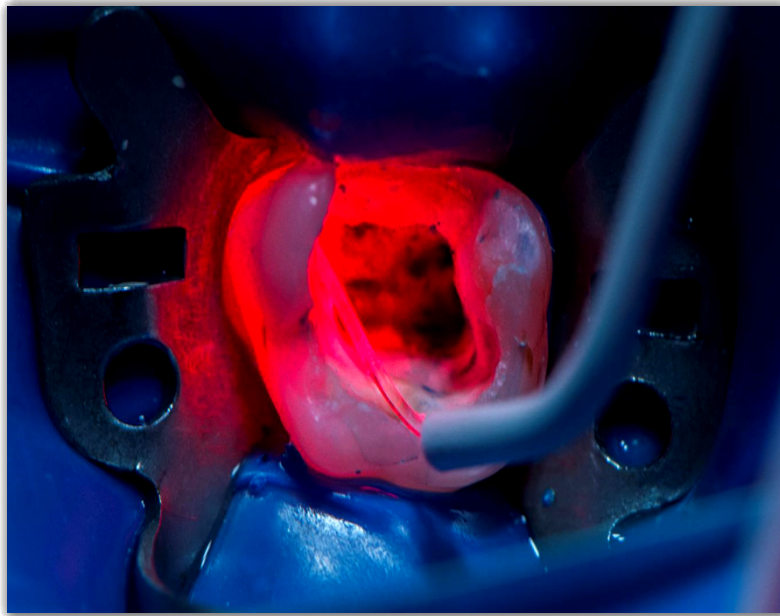
Fotodinamska terapija (*engl. photodynamic therapy*, PDT) je način liječenja koji se prvi put spominje 1900. godine. Međutim, veću pozornost dobiva tek u posljednjem desetljeću zbog određenih povoljnih karakteristika u liječenju mikrobnih infekcija. PDT se definira kao „svjetlošću inducirana inaktivacija stanica, mikroorganizama ili molekula“. Postoji nekoliko termina za PDT u literaturi: antimikrobna fotodinamska terapija (*engl. antimicrobial photodynamic therapy*, APT), fotodinamska antimikrobna kemoterapija (*engl. photodynamic antimicrobial chemotherapy*, PACT) i fotodinamska dezinfekcija (*engl. photodynamic disinfection* PD), fotodinamska inaktivacija (*engl. photodynamic inactivation*, PDI), foto-aktivirana dezinfekcija (*engl. photoactive disinfection*, PAD) i svjetlosno aktivirana dezinfekcija (*engl. light-activated disinfection*, LAD) (1).

Osnova djelovanja PDT-e temelji se na spoznaji da svjetlost može pobuđivati netoksičnu boju (fotoaktivator) na svom ciljnom mjestu uz minimalne fotoučinke na okolno tkivo (Slika 1). Fotoaktivator (*engl. photosensitizer*, PS) je boja sposobna apsorbirati energiju iz izvora svjetlosti i prenijeti tu energiju na drugu molekulu. Glavni fotoaktivatori, koji se koriste u suvremenim kliničkim ispitivanjima, su fenotiazinske soli poput toluidinskog modrila O (TBO) i metilenskog modrila (MB) valne duljine apsorpcije 600–660 nm (1, 2). Ovakvu kombinaciju kemijskih tvari i svjetla otkrio je Oscar Raab 1900. godine. On je proučavao papučicu pod mikroskopom i primijetio da u prisustvu određenih fotoaktivatora aktiviranih svjetlošću, dolazi do produkcije atomarnog kisika, te papučica postupno gubi pokretljivost i nije se u stanju dijeliti. Reakcija je nazvana „fotodinamska akcija“ i smatra se začetkom antimikrobne fotodinamske terapije (1, 3). Međutim, istraživanja antimikrobne učinkovitosti takozvane „fotodinamske terapije“ progresivno su se smanjivala s pojavom antibiotika 1928. godine. U novije vrijeme, rastuća rezistencija mikroorganizama na antibiotike usredotočila je veću pozornost na klinički potencijal PDT-e.

PDT je način liječenja koji se brzo razvija unutar različitih medicinskih specijalnosti od 1960-ih, jer je selektivni, neinvazivni ili barem minimalno invazivan način liječenja za nekoliko vrsta bolesti. Naime, PDT je prvi put razvijen kao terapija za tumore i premaligne bolesti, ali predstavlja i alternativu u eradikaciji bakterija, gljivica i virusa. Razvoj rezistencije na PDT nije vjerojatan, jer u mikrobnim stanicama kisik i slobodni radikali kisika djeluju s nekoliko staničnih struktura i različitih metaboličkih putova. Nadalje, što se tiče poremećaja oralnog biofilma, antimikrobno djelovanje PS-a ima izravan utjecaj na izvanstanične molekule jer je posredovano singletnim kisikom koji ima visoku kemijsku reaktivnost. Stoga su polisaharidi prisutni u izvanstaničnoj matrici polimera bakterijskog biofilma također

osjetljivi na fotoučinak. Takva dvostruka aktivnost, koja nije izložena antibioticima, predstavlja značajnu prednost PDT-e (1).

Svrha je ovog rada objasniti djelovanje i primjenu PDT-e u endodonciji i predstaviti dosadašnje rezultate učinkovitosti PDT-e u endodontskom liječenju zuba.



Slika 1. Fotodinamska terapija u korijenskim kanalima donjeg prvog molara
(Doc.dr.sc. Ivona Bago)

2. OSNOVE FOTODINAMSKE TERAPIJE

2.1. Mehanizam djelovanja fotodinamske terapije

Fotodinamska terapija sastoji se od niza specifičnih elemenata u svom djelovanju (Slika 2):

1. sustavna ili topikalna primjena fotoaktivatora (PS) na pacijenta,
2. selektivno zadržavanje PS-a u ciljanim tkivima,
3. ozračivanje ciljanog tkiva svjetlošću,
4. fotokemijska reakcija i selektivno uništavanje oštećenih tkiva (4).

Fotoaktivator (PS) je glavna komponenta PDT-e, koja se može davati lokalno ili sistemski. PS je osjetljiv na svjetlost određene valne duljine (4). PDT se temelji na fotokemijskoj reakciji koja uključuje tri osnovna elementa:

1. fotoaktivator,
2. izvor svjetlosti i
3. molekularni kisik.

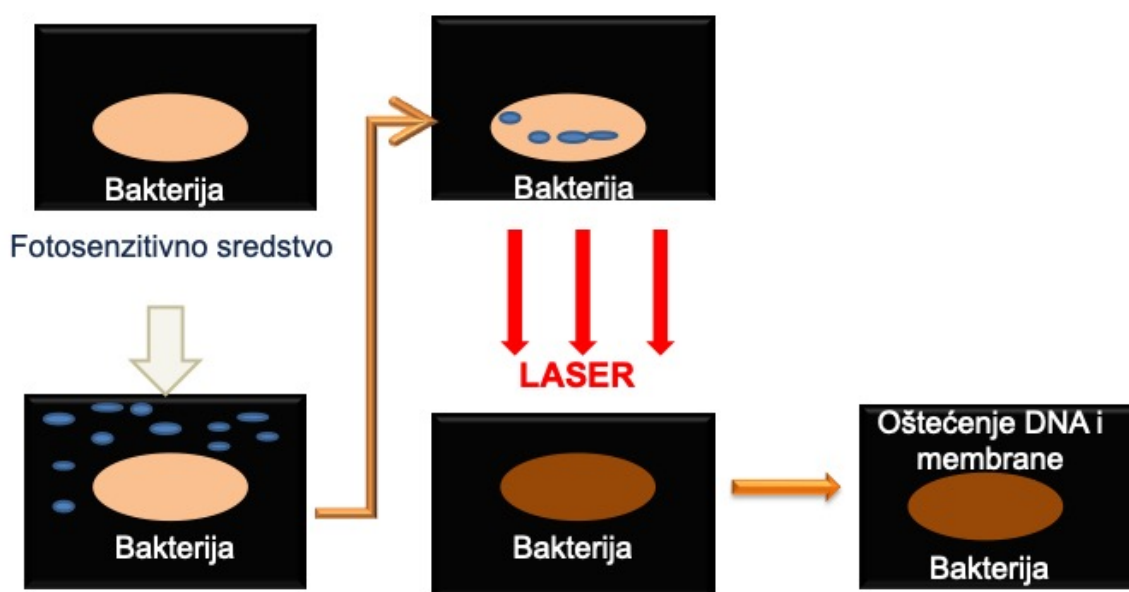
Fotoaktivator se veže za ciljne stanice te se potom aktivira svjetlošću odgovarajuće valne duljine i prelazi iz osnovnog u više energetska stanje, tzv. „singlet“ stanje. Iz tog stanja, PS može ići u dva smjera: vratiti se u osnovno energetska stanje uz emitiranje fluorescencije ili prijeći u stabilniji oblik, „triplet“ stanje. Ono u „triplet“ stanju može učiti u dvije različite reakcije s biomolekulama – tip 1 i tip 2, koje obje zahtijevaju kisik (4, 5).

- Tip 1 -zbog nesporenog elektrona, PS se reakcijom oksidacije brzo i nepredvidivo spaja s bilo kojom prostorno bliskom molekulom proteina, lipida ili ugljikohidrata uslijed čega nastaju slobodni radikali. Ti radikali su jako reaktivni i spajaju se s endogenim molekularnim kisikom pa nastaju visoko reaktivne vrste kisika poput peroksidnih ili superoksidnih aniona koji narušavaju integritet staničnih membrana i kao takvi djeluju baktericidno (4-6).
- Tip 2 - PS reagira direktno s molekularnim kisikom, a kao produkt nastaje atomarni kisik (*engl. singlet oxygen*). Atomarni kisik je visoko reaktivan, energetski pobuđen oblik molekularnog kisika i najodgovorniji je za oštećenje ciljne stanice. On reagira s mnogim biološkim molekulama kao što su lipidi, proteini i nukleinske kiseline (4-6).

Međutim, teško je razlikovati ova dva mehanizma reakcije. Doprinos oba tipa ukazuje da mehanizam oštećenja ovisi i o prisutnosti kisika i koncentraciji PS-a.

Prisutnost ovih molekula na mjestu koje se tretira uzrokuje oksidativni stres koji vodi do potencijalnog oštećenja ciljnih stanica. Baktericidno djelovanje ovih citotoksičnih vrsta pripisuje se dvama glavnim putovima: oštećenju stanične membrane i/ili oštećenju stanične DNA. Oba ishoda rezultiraju smrću stanica. Atomarni kisik igra središnju ulogu u citotoksičnosti PDT-e, i što ga više ima to je veća učinkovitost u uništavanju bakterija. Ozljeda stanica nastaje samo kad reaktivne kisikove citotoksične vrste nadvladaju biokemijsku obranu stanice, uzrokujući na taj način oksidaciju staničnih dijelova, poput stanične membrane i DNA, što rezultira staničnom smrću. Klinički je ta reakcija citotoksična i vaskulotoksična. Druga vrsta oštećenja uzrokovanih PDT-om je ona koja je nanesena citoplazmatskoj membrani bakterija citotoksičnim vrstama kisika, što dovodi do inaktiviranja membranskog transportnog sustava, inhibicije aktivnosti enzima plazme, peroksidacije lipida i drugih (1).

Mikroorganizmi poput bakterija, gljivica, virusa i protozoa mogu biti ubijeni od strane pojedinih vrsta kisika. Uobičajene *herpes simplex* infekcije mogu se uspješno liječiti PDT-om. Opsežne laboratorijske studije pokazale su da je važan aspekt ovog sustava to da dvije komponente, kada se koriste neovisno, ne proizvode nikakav utjecaj na bakterije niti na normalno tkivo. Učinak na bakterije stvara samo kombinacija PS-a i svjetlosti (1, 3, 4, 5).



Slika 2. Mehanizam djelovanja fotodinamske terapije

(Doc.dr.sc. Ivona Bago)

2.2. Vrste fotoaktivatora

PS je obično aromatska molekula koja je učinkovita u tzv. pobuđenom „triplet stanju“ koje nastaje kada se PS ozrači svjetlošću odgovarajuće valne duljine.

PS mogu biti:

1. fenotiazinske boje (metilensko modriilo (MB); toluidinsko modriilo O (TBO)),
2. ftalocijanini,
3. klorini,
4. porfirini,
5. ksanteni i
6. monoterpini (5).

Za idealan PS poželjne su brojne karakteristike: odsutnost toksičnosti i toksičnih nusproizvoda; nedostatak mutagenog učinka; selektivna akumulacija na ciljanom tkivu; pogodnost za lokalnu primjenu; niski troškovi; trebao bi se aktivirati samo u prisutnosti svjetla, a u tami ostati neaktivan; što duže se zadržati u pobuđenom „triplet“ stanju i u reakciji s kisikom stvoriti što veće količine kisikovih radikala i atomarnog kisika. Trebao bi imati visok afinitet za specifične mikroorganizme, brzo se vezati za njih, a prema stanicama domaćina ne bi smio imati afinitet kako bi se smanjila mogućnost mutagenog učinka. Vršak apsorpcije bi mu trebao biti između 600 i 800 nm (valne duljine ispod 600 nm imaju slabu penetraciju kroz tkivo, a iznad 800 nm fotoni gube energiju potrebnu za ekscitaciju neaktiviranog bojila). Za liječenje infekcija uzrokovanih različitim vrstama mikroorganizama, PS bi trebao imati širok spektar djelovanja na bakterije, gljivice, parazite i viruse te bi trebao biti brzo eliminiran iz tijela domaćina kako bi se smanjile sistemske fototoksične reakcije. Da bi PDT bio uspješan u antimikrobne svrhe, važno je odabrati odgovarajući i učinkovit netoksični PS koji može maksimalno apsorbirati korištene svjetlosne valne duljine (1-3).

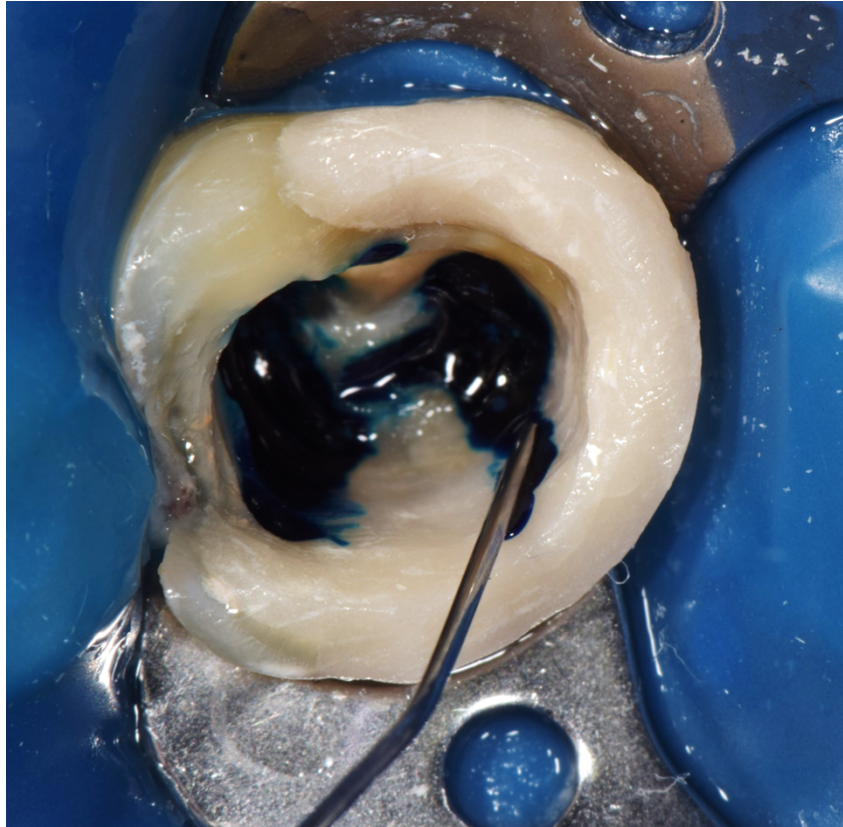
Glavne skupine fotoaktivatora korištene u PDT-i su derivati hematoporfirina (620-650 nm), fenotiazini (620-700 nm) (Slika 3), cijanin (600-805 nm), fitoterapijski agensi (550-700 nm) i ftalocijanini (660-700 nm) i klorini. Najviše proučavani i korišteni PS-i su fenotiazini (sintetički neporfirinski spojevi) metilensko modriilo (MB) i toluidinsko modriilo O (TBO, tolonijev klorid). Kurkumin, glavni sastojak kurkume u prahu, koji se stoljećima koristio u medicini, kao prehrambeni pigment i kao začim, također se od nedavno u stomatologiji koristi kao PS za PDT (1).

Istraživanja su pokazala da je za MB maksimalna valna duljina maksimalne apsorpcije 660 nm dok je za TBO 630 nm. MB i TBO imaju slične baktericidne učinke i sposobni su inaktivirati i gram-pozitivne i gram-negativne bakterije. Obzirom da su endodontske infekcije mješovite s gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterijama, PS-i poput MB i TBO (i hidrofobni i hidrofilni) su najprikladniji za PDT u endodonciji (1, 3, 7).

S gledišta interakcije bakterija i PS-a, učinkovitost PDT-e uglavnom je povezana s tri glavna aspekta:

1. sposobnost PS-a za interakciju s bakterijskom membranom;
2. sposobnost PS-a za prodiranje i djelovanje unutar stanice;
3. reaktivno stvaranje atomarnog kisika oko bakterijske stanice osvjetljavanjem PS-a (1).

Općenito, prilikom izbora odgovarajućeg PS-a trebalo bi uzeti u obzir vrstu ciljane bakterije. Ako je gram-pozitivna, mogu se koristiti i kationska i anionska bojila, a ako je gram-negativna, kationske boje su učinkovitije. Osim sposobnosti PS-a da se veže na bakterijske membrane i prodre unutar bakterije, postoje i izvješća o inaktivaciji bakterija u kojima PS ne mora prodrijeti ili čak susresti stanice da bi bio učinkovit. Prema nekim autorima, ako se u vanjskoj membrani bakterija mogu stvoriti dovoljne količine atomarnog kisika, on će moći utjecati na vitalne strukture. Stoga, ako PS ne može komunicirati s ciljanim bakterijama, ali se reaktivni proizvodi terapije (poput atomarnog kisika) stvaraju u blizini stanice, njegova održivost ovisit će o udaljenosti do bakterija. Prema tome, važno je doći i do najpristupačnijeg intrakanalnog područja jer se uspjeh može postići i bez izravnog kontakta PS-a i bakterija. U svakom slučaju, unatoč svim gore navedenim razmatranjima, glavni mehanizam djelovanja PDT-e smatra se mehanizam tipa II, putem atomarnog kisika kao reaktivne vrste koja inducira biološka stanična oštećenja (1).



Slika 3. Aplikacija fotosenzitivnog sredstva (fenotijazin klorid) u korijenske kanale

(Doc.dr.sc. Ivona Bago)

2.3. Izvori svjetla za fotodinamsku terapiju

Nakon aplikacije fotoaktivatora i njegovog vezanja za mikroorganizme, potrebno ga je aktivirati svjetlošću čija jačina odgovara vršku apsorpcije primijenjenog PS-a. Vrlo je važno izabrati odgovarajući izvor svjetla kako bi se osiguralo dovoljno duboko prodiranje u tkivo i uspješna aktivacija PS-a.

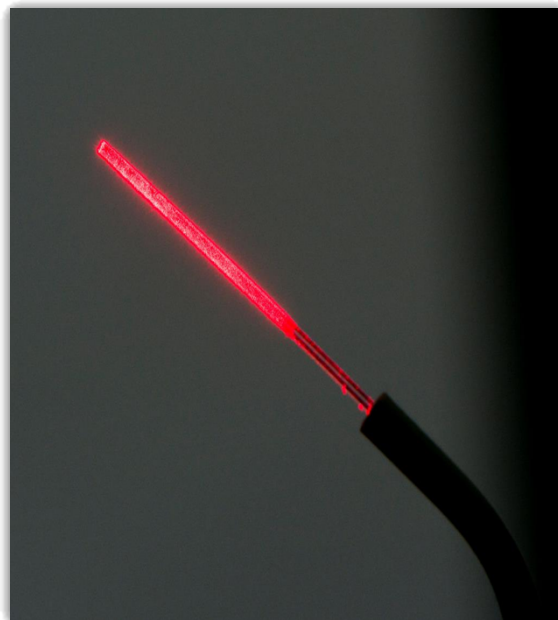
U literaturi su opisane tri glavna klinička izvora svjetlosti:

1. LASER,
2. diode koje emitiraju svjetlost (*engl. Light emitted diode, LED*),
3. halogene žarulje.

Prvi korišteni izvor svjetlosti u PDT-i bile su halogene žarulje. Međutim, nisu davale dobre rezultate zbog svojih svojstava poput polikromnosti, stvaranja velike količine topline i nekoherentnosti (8).

Lasери su izrazito dobar izvor zračenja i najčešće se primjenjuju jer proizvode intenzivna koherentna elektromagnetska polja koja se protežu od infracrvenog do ultraljubičastog zračenja. Boja svjetlosti ovisi o valnoj duljini. Kraće valne duljine (200-400 nm) emitiraju ljubičastu svjetlost, a dulje (700-1500 nm) crvenu. Emitirano lasersko svjetlo karakteriziraju elektromagnetski valovi istih valnih duljina, smjera, frekvencije i boje, što omogućava maksimalnu učinkovitost ako se valna dužina lasera poklapa s vrškom apsorpcije fotoaktivatora, a zbog emitiranja zračenja visoke energije skraćuje se vrijeme pojedine ekspozicije (8). Valna duljina se mora nalaziti unutar tzv. „terapijskog prozora“ elektromagnetskog spektra između 635 i 1000 nm, što je područje s maksimalnim prodorom svjetlosti u tkiva. Smatra se da je dubina prodiranja u tkiva pri valnoj duljini između 635 i 675 nm otprilike 3-3,5 mm, dok je pri duljini od 800 do 1000 nm čak 4-5 mm (5) (Slika 4).

U PDT-i koristimo lasere niske snage, 30-100 mW i valne duljine između 630 i 800 nm. U tu svrhu se koriste helij-neon laseri (633 nm, crveno svjetlo), diodni laseri (635-980 nm, infracrveno svjetlo), Nd-YAG i argonski laseri (488-514 nm). Danas su, u PDT-i, prvi izbor diodni laseri jer su jeftiniji, jednostavni za rukovanje i prijenos (1).



Slika 4. Trodimenzionalni fiber optički nastavak za fotodinamsku terapiju

(Doc.dr.sc. Ivona Bago)

2.4. Vrijeme zračenja i doze zračenja kod fotodinamske terapije

Vrijeme koje je proteklo između isporuke PS-a u sustav korijenskog kanala i njene aktivacije svjetlom naziva se "vrijeme prije ozračivanja". To vrijeme je ključni faktor PDT-e jer dopušta PS-u da prodire kroz dentin i ostvaruje svoj antibakterijski učinak te pomaže zadržati PS unutar bakterija (1). Istraživanja o potrebnom vremenu prije ozračivanja su kontradiktorna, a dostupni podaci pokazuju da se ono kreće od 5 do 15 min (Tablica 1).

Prema Williams i sur. (9), energetska doza i vrijeme zračenja najvažniji su faktori u uništavanju mikroorganizama. Pourhajibagher & Bahador (10) koristili su izlaznu snagu od 220 mW na valnoj dužini od 635 nm tijekom 60 s. Rezultati su pokazali da se mikrobnost i broj značajno smanjuju, osim za *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) koji nije bio inhibiran u ovom kratkom izlaganju laserskom zračenju. Nadalje, autori su naveli da neprikladna koncentracija PS-a može biti razlog preživljavanja *P. gingivalis* protiv TBO-PDT-e. Također, smanjena osjetljivost *P. gingivalis* na PDT pripisana je slabij penetraciji TBO-a u bakteriju. Soares i sur. (11) zaključuju da je učinkovitost PDT-e bolja s povećanjem energetske doze, smanjenjem volumena bakterijske suspenzije i većim brojem ciklusa terapije. Prema Wainwrightu (1998.) (12), PS, koji mikroorganizam polako preuzima može uzrokovati prvo samo oštećenje stanične stijenke, dok će, primjerice, lom lanca nukleinske kiseline biti vidljiv nakon dužeg vremena inkubacije (1).

Da bi razumjeli i kontrolirali ozračivanje, potrebno je poznavati neke fizičke parametre. Energija (E) laserskog zračenja se može definirati kao količina svjetlosti usmjerena na ciljno mjesto, a određena je odnosom snage (P) i vremena primjene (t) ($E = P \times t$) (3).

Tablica 1. Najčešće primjenjivane doze zračenja u istraživanjima. Preuzeto iz (6).

AUTORI	VALNA DULJINA LASERA (nm)	PROMJER VLAKNA (μm)	IZLAZNA SNAGA (mW)	GUSTOĆA SNAGE (mW/cm^2)	TRAJANJE ZRAČENJA (min)
Bago i sur. (13)	660	320	100	-	1
Vaziri i sur. (14)	625	-	-	200	1
Foschi i sur. (15)	665	500	-	100	5
Soukos i sur. (16)	665	500	1000	100	5
Rios i sur. (17)	628	-	-	-	0,5
Pagonis i sur. (18)	665	250	1000	100	10
Fonseca i sur. (19)	660	600	50	-	5
Bergmans i sur. (20)	635	300	100	-	1,5
Poggio i sur. (21)	628	-	1000	-	0,5 1,5
Nagayoshi i sur. (22)	805	400	5000	-	2
Schlafer i sur. (23)	628	4×10^3	1000	-	0,5
Garcez i sur. (24)	660	200	40	-	4

2.5. Utjecaj fotodinamske terapije na bakterije

Otpornost gram-negativnih bakterija na PDT nastaje zbog različitih struktura vanjske membrane gram-negativnih bakterija i hidrofobnih i nabojnih učinaka PS-a. Zapravo, čini se da je fotoosjetljivost bakterija povezana s nabojem aktivatora. Kationski PS-ovi, poput MB-a i TBO-a, mogu inaktivirati i gram-pozitivne i gram-negativne bakterije. Općenito, gram-negativne vrste su značajno otpornije na neke najčešće korištene fotoaktivatore u PDT-i, dok su pozitivni rezultati PDT-e dobiveni na gram-pozitivne vrste koje su osjetljivije zbog poroznog sloja peptidoglikana i lipoteikoične kiseline izvan citoplazmatske membrane, koji omogućava PS-u difuziju na osjetljiva mjesta.

Postoji temeljna razlika u osjetljivosti gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija na PDT. Općenito, gram-pozitivne bakterije (G+) su osjetljivije od gram-negativnih bakterija (G-). Velika osjetljivost G+ vrsta može se objasniti njihovom fiziologijom. Citoplazmatska membrana okružena je relativno poroznim slojem peptidoglikana i lipoteikoične kiseline, što omogućava PS-u da prolazi kroz nju. G- bakterije imaju unutarnju citoplazmatsku membranu i vanjsku membranu razdvojene periplazmom koja sadrži peptidoglikan i koja stvara fizičku i funkcionalnu barijeru između stanice i njenog okoliša. U vanjskoj membrani prisutno je nekoliko različitih proteina, od kojih neki funkcioniraju kao pore koje omogućuju prolazak hranjivih tvari, dok drugi imaju enzimsku funkciju ili su uključeni u održavanje strukturnog integriteta vanjske membrane. Neutralne ili anionske PS molekule učinkovite su u vezanju i inaktiviranju G+ bakterija. U G- bakterijama se te molekule vežu samo s vanjskom membranom i ne mogu ih potpuno inaktivirati nakon osvjetljenja. Da bi inaktivirali bakterijsku stanicu, stanična membrana mora apsorbirati PS i/ili mora biti translociran u citoplazmu, što dovodi do inhibicije daljnje sinteze DNA, RNA i proteina. Stoga je PDT-ubijanje gram-pozitivnih bakterija definitivno mnogo lakše postići nego ubijanje gram-negativnih bakterija (3).

Prema Wainwrightu (12), fenotiazini su učinkovitiji protiv G+ u odnosu na G-vrste. MBO djeluje pretežno s anionskim makromolekulama lipopolisaharida (LPS) zbog svoje hidrofilne prirode, male molekulske težine i pozitivnog naboja koji omogućava prolazak kroz proteinske kanale u vanjskoj membrani G- bakterija. U *in vitro* studiji Usacheva i sur. (25), TB je u interakciji s G-LPS djelovala puno uspješnije od MB, što može biti jedan od glavnih faktora u fotooksidativnom učinku protiv G- bakterija (3).

**3. INDIKACIJE ZA PRIMJENU FOTODINAMSKE TERAPIJE U DENTALNOJ
MEDICINI**

Fotodinamska terapija trenutno se koristi u mnogim područjima medicine. Uspješno je uvedena u dermatologiju, urologiju i ginekologiju. Prihvaćena je kao dodatni protokol u liječenju raka i mnogih kožnih bolesti. PDT ima brojne neosporne prednosti. Sigurna je za ljudska tkiva i selektivno eliminira stanice pogođene patogenima. PS može prodrijeti u mrtva ili oštećena tkiva bez razvoja otpornosti koja se može pojaviti nakon dugotrajne antibiotske terapije. PDT ima širok terapijski okvir i učinkovit je u iskorijenjivanju mikroorganizama, bilo u kolonijama ili biofilmu. PDT je obećavajući način liječenja oralnih bolesti (4).

Primjena svjetla također ima dijagnostička svojstva. U usnoj šupljini pomaže u pronalaženju karijesa, zubnog plaka, mrlja ili kamenca. U dentalnoj medicini se koristi za dezinfekciju dentina nakon mehaničkog uklanjanja karijesa i nekrotičnog tkiva iz korijenskih kanala. U oralnoj kirurgiji se uklanjanjem mikroorganizama iz alveole nakon ekstrakcije zuba omogućava brže i bezbolnije zarastanje te smanjuje rizik od odbacivanja imedijatno postavljenog implantata, stoga je koristan kod dijagnoza poput alveolarnog osteitisa, boli nakon ekstrakcije i periimplantitisa (1, 2, 4).

U parodontologiji se koristi u liječenju lokalizirane mikrobne parodontne infekcije. Provedeno je mnogo istraživanja koja su potvrdila učinkovitost PDT-e u parodontologiji. Izrađeni su eksperimentalni životinjski modeli za analizu upalnih stanja u gingivalnim tkivima nakon primjene PDT-e. U promatranjima primjene PDT-e došlo je do značajnog smanjenja limfocita u ozračenim tkivima. Inaktivacija citokina destruktivnih domaćina koji sprječavaju regeneraciju parodontalnog tkiva, također je važan ishod ove terapije (4).

Bolesti kože i sluznice pojavljuju se, na primjer, u obliku afti, herpesa, kandidijaze i dehiscijencije kuta usana. Pored bakterija, virusi i gljivice također igraju ključnu ulogu u razvoju tih stanja. PDT djeluje na mikroorganizme te omogućava brže zacjeljivanje rana i ima učinak ublažavanja boli (1, 4).

Dentalni stomatitis je infekcija oralne sluznice lokalizirana u području koje je prekriveno bazom proteze, obično nepce. Etiologija je multifaktorijalna, no smatra se da je *Candida albicans* najčešća vrsta koja uzrokuje upalu. PDT ima veliki potencijal postati novi standardni protokol za liječenje oralne kandidijaze. Potrebno je pronaći učinkovitu i neinvazivnu fungicidnu terapiju za imunodeficijentne bolesnike i starije osobe. PDT ispunjava ove kriterije i djeluje na način da povećava propusnost membrane *C.albicans* te potiče staničnu smrt. Postupak nanošenja jednostavan je za izvođenje u usnoj šupljini. Nije bolan i dosad nisu zabilježene štetne reakcije tkiva (4).

4. FOTODINAMSKA TERAPIJA U ENDODONCIJI

4.1. Rezultati dosadašnjih znanstvenih *in vitro* istraživanja o učinkovitosti fotodinamske terapije u endodontici

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*), gram-pozitivni fakultativni anaerobni kok, jedan je od glavnih etioloških čimbenika u perzistentnim endodontskim infekcijama. Jedan objavljeni sustavni pregledni rad o učinkovitosti PDT-e na *E. faecalis* pokazao je da je PDT učinkovit u smanjenju broja *E. faecalis* kolonija iz zaraženih korijenskih kanala izvađenih ljudskih zuba u usporedbi s tradicionalnim protokolima za liječenje instrumentacijom ili irigacijom (26) (Tablica 2). Kombinacija svjetlosti i nanočestica MBO-a rezultirala je smanjenjem otprilike 2 i 1 log₁₀ u jedinicama koje formiraju koloniju *E. faecalis* u planktonskoj fazi u korijenskim kanalima (26).

Garces i sur. (27) objavili su *in vitro* istraživanje u kojem su izvađene ljudske zube inficirali s dvije gram-negativne bakterije: *Proteus mirabilis* i *Pseudomonas aeruginosa*. Uzorke su kultivirali tri dana. Usporedili su učinak konvencionalne endodontske terapije s PDT-om, pri čemu su za PDT koristili spoj polietilamina i klorina e6 kao PS kojeg su aktivirali diodnim laserom (660nm). Standardna endodontska terapija primijenjena samostalno pokazala je smanjenje bakterija za 90%, dok je PDT samostalno reducirao broj za 95%. Najbolji rezultati dobiveni su kombinacijom ove dvije terapije pri čemu je smanjenje broja bakterija bilo čak 98% (27).

Rios i sur. (17) su u svoje istraživanje uključili ekstrahirane zube inficirane s *E. faecalis* tijekom dva tjedna. Koristili su TBO i LED izvor svjetla nakon što je već provedena dezinfekcija s 6% NaOCl. Zaključeno je da PDT skupa sa NaOCl pokazuje puno bolje rezultate u odnosu na obe metode primijenjene samostalno (17).

Poggio i sur. (21) napravili su vrlo slično istraživanje s istim rezultatima. Jedina razlika je bila u tome da su zubi bili inficirani sa *E. faecalis*, *S. mutans* i *S. sanguis*. Zaključili su da PDT primjenjivan duže vrijeme ili u kombinaciji s 5% NaOCl pokazuje značajno bolji antimikrobni učinak (21).

Bago i sur. (13) proučavali su antimikrobni učinak na *E. faecalis* zračenjem diodnim laserom (2 W, 3 x 20 s), PDT-om (100 mW, 60 s), ispiranjem s 2.5% NaOCl 60 s te zvučno aktiviranim ispiranjem (EndoActivator sistem s 2.5% NaOCl, 60 s). PDT i EndoActivator sustav bili su uspješniji u smanjenju infekcije korijenskog kanala nego samo diodni laser i ispiranje NaOCl-om (13).

Borba i sur. (28) izvijestili su o 100%-tnoj učinkovitosti kombinacije eritrozina i LED-a u eradikaciji *E. faecalis* u planktonskoj suspenziji. Učinkovitost PDT-e na biofilm *P. gingivalis* ili *E. faecalis* pokazana je korištenjem *indocyanin greena* kao PS-a (28).

Hoedke i sur. (29) analizirali su nekoliko protokola ispiranja korijenskih kanala, kao i primjenu PDT-e na multibakterijski biofilm. Protokoli ispiranja utjecali su na smanjenje bakterija odmah nakon tretmana i nakon 5 dana daljnje inkubacije za planktonske i adhezivne bakterije. Nadalje, značajan učinak PDT-e na smanjenje bakterija može se pokazati nakon 5 dana dodatne inkubacije i kemo-mehaničke obrade koristeći 1% NaOCl i 2% klorheksidin. Iako je nakon PDT-e otkriveno značajno smanjenje bakterija, količina preostalih bakterija i dalje je visoka i klinički nije zadovoljavajuća. To sugerira da bi PDT mogao biti učinkovita pomoćna metoda u dezinfekciji korijenskih kanala, ali ne i samostalan terapijski postupak. Kad je korišten PDT s 5% NaOCl, uočeno je 99,99% smanjenje broja mikroorganizama u korijenskim kanalima zaraženim *E. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Candidom albicans* (29).

Tablica 2. Rezultati *in vitro* istraživanja. Preuzeto i prilagođeno (3).

REFERENCE	TIP STUDIJE	Mikroorganizmi	Smanjenje bakt.(%)
Williams i sur., 2006 (30)	<i>In vitro</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Peptostreptococcus</i> <i>micros</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>S. intermedius</i>	99
Soukos i sur., 2006 (31)	<i>In vitro</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>F.</i> <i>nucleatum</i> , <i>P. micros</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i> , <i>E. faecalis</i>	97
George i Kishen, 2007 (32)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>Aggregatibacter</i> <i>actinomycetemcomitans</i>	100/99,77
George i Kishen, 2008 (33)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i>	100
Pagonis i sur., 2010 (18)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i>	84,8
Upadya i Kishen, 2010 (34)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	100/99
Schlafer i sur., 2010 (23)	<i>In vitro</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>E.</i> <i>faecalis</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>S. intermedius</i>	99,75
Garcez i sur. 2010 (24)	<i>In vitro</i>	Polymicrobial	100
Shrestha i sur., 2012 (35)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i>	100
Shrestha i Kishen, 2012 (36)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i>	27-98
Stojicic i sur., 2013 (37)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>mixed plaque</i>	0-100
Borba i sur., 2017 (28)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i>	100
Hoedke i sur., 2018 (29)	<i>In vitro</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Candidom albicans</i>	99,9

4.2. Rezultati dosadašnjih kliničkih istraživanja o učinkovitosti fotodinamske terapije u endodonciji

Do danas je provedeno nekoliko kliničkih istraživanja o djelotvornosti fotodinamske terapije kao dodatak konvencionalnom endodontskom liječenju (Tablica 3).

Bonsor i sur. (38, 39) objavili su dva istraživanja o PDT-i. Prvi članak je imao za cilj procijeniti učinkovitost PDT-e kao dodatak standardnoj dezinfekciji korijenskog kanala. Ta studija se usredotočila na zube sa simptomima ireverzibilnog pulpitisa ili periradikularnog parodontitisa. Uzeta su i uspoređena tri mikrobiološka uzorka, prvi odmah nakon što su korijenski kanali pronađeni, drugi nakon standardnog protokola dezinfekcije i ispiranja, a treći nakon PDT-e. Uzorci su nasadeni na medij anaerobne kulture i inkubirani pet dana. 16 od 20 inficiranih kanala je bilo negativno na kulturu stanica nakon konvencionalne endodontske terapije, a od preostala četiri, tri su postala negativna nakon fotodinamske terapije. Za posljednji uzorak koji je ostao pozitivan, utvrdilo se da je optičko vlakno bilo oštećeno pa se efektivna svjetlosna snaga smanjila za 90%. Autori su zaključili da PDT nudi mogućnost uspješnog uklanjanja bakterija, pogotovo kad standardnim protokolom endodontskog liječenja to nije postignuto (38).

U drugom istraživanju Bonsor i sur. (39) usporedili su djelovanje 20%-tne limunske kiseline u kombinaciji s PDT-om s djelovanjem 20%-tne limunske kiseline i 2,25%-tnog NaOCl-a na bakterije u korijenskom kanalu. Uzeli su uzorke prije i poslije djelovanja PDT-e i nasadili ih na anaerobnu kulturu. Od kanala obrađenih u grupi 1, samo su dva od 23 zaražena kanala pokazala kultivirajuće bakterije nakon uporabe limunske kiseline i PDT-e. Rezultati su pokazali da je kombinacija limunske kiseline i PDT-e vrlo učinkovita alternativa konvencionalnom liječenju u kojem se koristi NaOCl (39).

Garcez i sur. (40) su također ispitivali antimikrobni učinak PDT-e u kombinaciji s konvencionalnim endodontskim liječenjem. Uzeli su uzorke odmah nakon pronalaska kanala, nakon instrumentacije i ispiranja te nakon fotodinamske terapije. Na kraju prve faze korijenski kanal bio je ispunjen kalcij hidroksidom, a nakon jednog tjedna provedena je druga faza terapije. Rezultati su pokazali da primjena PDT-e kao pomoćnog sredstva za konvencionalni endodontski postupak dovodi do značajnog daljnjeg smanjenja bakterija, a primjena još jednog PDT postupka u drugoj posjeti dodatno smanjuje broj bakterija (40).

Garcez i sur. (24) ispitivali su PDT na pacijentima s nekrozom pulpe i mikroflorom rezistentnom na antibiotike. U istraživanje su uključili 30 takvih zuba kod 21 pacijenta i svi su prethodno već bili liječeni konvencionalnim endodontskim postupkom.

Bago Jurič i sur. (41) ispitivali su učinkovitost PDT-e (660 nm, 1 min, 100 mW) kao dodatnog dezinfekcijskog postupka nakon konvencionalnog endodontskog liječenja (revizije) zuba kod pacijenata s perzistirajućim periapikalnim procesom. Dokazali su da PDT primijenjena nakon konvencionalnog završnog protokola ispiranja kanala dodatno smanjuje broj bakterija u korijenskom kanalu zuba.

Tablica 3. Klinička istraživanja o učinkovitosti fotodinamske terapije u endodonciji. Preuzeto i prilagođeno (6).

AUTOR / GODINA	CILJ I MATERIJALI	METODE	ZAKLJUČAK
Bonsor i sur., 2006 (38)	Procijeniti uspješnost dezinfekcije korijenskog kanala kombinirajući konvencionalni endodontski tretman i PDT. Istraživanje je provedeno na 32 korijenska kanala 14 pacijenata.	Ispiranje s 20%-nom limunskom kiselinom i 2,25%-nim NaOCl, PDT – TBO i diodni laser (12.7 mg/L, 100 mW, 120 s).	Struganjem i ispiranjem korijenskih kanala uništene su bakterije u 86,7% uzoraka. Kombinacijom struganja i ispiranja + PDT uništene su bakterije u 96,7% uzoraka.
Bonsor i sur., 2006 (39)	Usporediti učinkovitost kombinacije 20%-ne limunske kiseline i PDT-e nasuprot učinkovitosti kombinacije 20%-ne limunske kiseline i 2,25%-nog NaOCl-a na bakterije u korijenskom kanalu. 64 pacijenta su sudjelovala.	Protokol isti kao u prethodno prikazanoj studiji.	Kombinacijom 20%-ne limunske kiseline i PDT-e uništene su bakterije u 91% uzoraka. 20%-nom limunskom kiselinom i 2,25%-nim NaOCl-om eradikirane su bakterije u 82% uzoraka.
Garcez i sur., 2008 (40)	Analizirati antimikrobni učinak PDT-e s endodontskim liječenjem. 20 pacijenata je uključeno. Prva faza: mehanička obrada i ispiranje korijenskih kanala + PDT. Druga faza: nakon prve faze kanal ispunjen kalcij hidroksidom i nakon jednog tjedna ponovljen PDT.	Ispiranje s 2,5%-nim natrij hipokloritom, 3%-nim hidrogen peroksidom i 17% EDTA-om. PDT – polietilenamin klorin e6 (2 min, 9,6 J, 240 s).	Nakon prve faze broj bakterija je smanjen za 98,5%. Nakon druge faze broj bakterija je smanjen za 99,9%. Druga faza se pokazala učinkovitijom od prve.

<p>Garcez i sur., 2010 (24)</p>	<p>Istražiti antimikrobni učinak PDT-e + konvencionalno endodonsko liječenje u pacijenata s nekrozom pulpe i infekcijom bakterijama rezistentnim na antibiotike. 30 zubi s periapikalnim lezijama od 21 pacijenta koji su već bili prethodno liječeni konvencionalnim endodontskim liječenjem i antibiotskom terapijom.</p>	<p>PDT – polietilamin klorin e6 kao PS i diodni laser (40 mW, 4 min, 9,6 J)</p>	<p>Samo endodontskom terapijom se znatno smanjio broj bakterijskih vrsta (ali samo su 3 zuba bila bez bakterija). Kombinacijom endodontskog liječenja i PDT-e uklonjene su sve vrste bakterija rezistentne na antibiotike i svi su zubi bili u potpunosti bez bakterija.</p>
<p>Silva i sur., 2012 (42)</p>	<p>Istraživali su odgovor periapikalnog tkiva zuba pasa sa apikalnim parodontitisom nakon jednoposjetnog endodontskog liječenja s i bez PDT-e.</p>	<p>PDT – fenotiazin klorid 10 mg/mL 3 min; diodni laser (660 nm, 60 mW, 1 min).</p>	<p>Grupa tretirana PDT-om pokazala je umjereno uvećano periapikalno područje, bez upalnih stanica, umjerenu angiogenezu i fibrinogenezu i najmanju periapikalnu leziju.</p>
<p>Bago Jurič i sur., 2014 (41)</p>	<p>Ispitati dodatni učinak PDT-e u eradikaciji mikroorganizama nakon konvencionalnog postupka revizije kod pacijenata s perzistirajućim periapikalnim procesom 21 pacijent.</p>	<p>PDT - fenotijazin klorid kao PS + diodni laser (660 nm, 100 mW, 1 min zračenja), trodimenzionalni fiber optički nastavak.</p>	<p>Iako je samo endodonsko liječenje (revizija) dovelo do značajnog smanjenja broja vrsta bakterija, kombinacija endodontskog liječenja i PDT-e bila je učinkovitija. Kod 11 zuba (od 21) nije otkriven porast bakterija.</p>

4.3. Ograničenja fotodinamske terapije u endodontskom liječenju

Iako PDT ima brojne prednosti, zabilježene su i potencijalno štetne nuspojave. Primjerice, kada se kao PS koristi MBO može doći do obojenja zuba. Također, uočeno je da na to utječe i samo vrijeme prije ozračivanja pa kad ono iznosi 10 minuta obojenje zuba je puno izraženije. To se objašnjava time što tijekom dužeg vremena djelovanja PS može dublje prodrijeti u dentin, bliže caklinsko-dentinskom spojištu pa je i sama diskoloracija uočljivija. Međutim, uočeno je da se korištenjem 2,5%-tnog NaOCl-a tijekom kemo-mehaničke obrade korijenskog kanala smanjuje obojenje zuba uzrokovano primjenom MBO-a. Osim toga, korištenjem MBO-a u koncentraciji od 100 µg/mL također se smanjuje mogućnost diskoloracije zuba, a istovremeno se čuvaju njegova fotobakterijska svojstva (1).

Drugi nedostatak PDT-e je viskoznost PS-a zbog čega obliterira dentinske tubuluse, što može oslabiti vezu dentina i materijala za punjenje i uzrokovati mikropropuštanje. Zbog toga je važno dobro isprati PS iz korijenskog kanala (1).

Souza i sur. (43) objavili su da primjena pasivnog ultrazvučnog ispiranja u kombinaciji s 17%-tnom etilendiaminotetraoctenom kiselinom (EDTA) i QMiX (Dentsply Sirona) pomaže u uklanjanju PS-a iz cervikalne, srednje i apikalne trećine korijenskog kanala, nakon PDT-e.

Nadalje, uočeno je da vrste bakterija koje su prisutne u kanalu i njihov način rasta utječu na njihovu osjetljivost na PDT ovisno o dozi zračenja (1).

U literaturi se spominje i potencijalna citotoksičnost PDT-e. Provedena su *in vitro* i *ex vivo* istraživanja koja su imala za cilj istražiti sigurnost PDT-e za primjene *in vivo*. Autori su zaključili da je PDT pod terapijskim prozorom siguran (44). Druga istraživanja (32, 45) su objavila da je citotoksičnost PDT-e znatno manja u usporedbi s NaOCl kada se koristi za dezinfekciju korijenskog kanala. Gomes-Filho i sur. (45) izvijestili su da PDT s kurkuminom nije citotoksičan i ne inhibira održivost fibroblasta. Budući da je toksičnost PS-a, bio on aktiviran svjetlošću ili ne, slična uobičajenim endodontskim otopinama za ispiranje, preporučuje ga se koristiti klinički uz mjere opreza slične onima uobičajenima za otopine za ispiranje. Vezano za doze zračenja, najveća opažena snaga odnosi se na izvore LASER-a, vjerojatno zato što ova svjetlost koncentrira veliku energiju na malom području. Ove aspekte treba pažljivo analizirati kada se koriste na zubima jer porast temperature može izazvati traumu okolnih tkiva zbog toplinske ozljede i uzrokovati nepovratne promjene. Jedna od prednosti PDT-e u kliničkoj primjeni je odsutnost toplinskih nuspojava u periradikularnom tkivu. Djelovanje PDT-e temelji se na fotokemijskoj aktivnosti, a ne na termičkim učincima

za razliku od mnogih drugih tehnika laserske terapije. Odsustvo toplinskog učinka PDT-e čini ga moćnim u kliničkoj primjeni eradikacije mikroorganizama poput bakterija, gljivica i virusa (1).

Također, čini se da PDT djeluje na mikroorganizme rezistentne na antibiotike. Pored toga, nema dokaza o razvoju otpornosti mikroorganizama na PDT, čak i nakon tretmana ponovljenih aplikacija (1).

Istraživanja su pokazala da postoji razlika u učinkovitosti PDT-e na planktonske stanice i na bakterijski biofilm. Pritom se djelotvornost na bakterijski biofilm pokazala nešto slabijom u odnosu na planktonske stanice prisutne u korijenskom kanalu (18, 28, 46). Također, uočena je razlika u učinkovitosti takve vrste liječenja na gram-pozitivne i gram-negativne bakterije (12, 25).

Soares i sur. (11) su u svom istraživanju 2018. godine pokazali na koji način doza zračenja, broj ciklusa PDT-e i količina bakterijske suspenzije (BS) utječe na uklanjanje planktonskih oblika *E. faecalis*. Koristili su diodni laser snage 40 mW, a kao fotoaktivator, metilensko modriolo koncentracije 0,005 µg/mL. U istraživanju su imali 4 skupine: u skupini 1 ispitivan je utjecaj energetske doze (100 µL BS i 100 µL PS zračeno je 1, 2,5, 5, 7,5 i 10 minuta), u skupini 2 učinak broja ciklusa PDT-e (BS je primio 1, 2, 3 ili 4 PDT ciklusa, a u svaki ciklus dodano je 100 ml PS i zračeno 2,5 minute), u skupini 3 utjecaj energetske doze i volumena BS-a (10 µL BS i 10 µL PS je zračeno kao u grupi 1), a u skupini 4 tri parametra skupa (10 µL BS i 10 µL PS je zračeno u skladu sa grupom 2). Rezultati su pokazali da PDT ciklusi iznad 12 J značajno povećavaju uklanjanje bakterija, što u kombinaciji s većim brojem ciklusa terapije dovodi do logaritamskog smanjenja broja bakterija (11).

Borba i sur. (28) procjenjivali su učinkovitost fotodinamske terapije primjenom eritrozina u različitim koncentracijama, zračenjem izvorima svjetlosti velike snage i različitim brojem aplikacija na *E. faecalis* u planktonskoj suspenziji. Korišteno je LED svjetlo valne duljine 440-480 nm i neprekidne snage od 600 mW tijekom 120 i 240 sekundi, a ispitivane koncentracije eritrozina bile su 5 µM i 10 µM. Zaključak ovog istraživanja bio je da PDT s eritrozinom koncentracije 10 µM i LED svjetlom velike snage može potpuno ukloniti planktonsku suspenziju *E. faecalis* (28).

Pourhajibagher i sur. (46) 2018. godine objavili su istraživanje o tome kako različiti fotoaktivatori utječu na smanjenje broja *E. faecalis* u planktonskoj suspenziji i biofilmu. Ispitivali su metilensko modriolo, toluidinsko modriolo O, indocyanine green (ICG) i kurkumin (CUR). Zračenje su proveli diodnim laserom i LED-om, valnih duljina ovisno o PS-u. Postotak ubijanja *E. faecalis* je bio 99,6% (CUR), 98,2% (ICG), 85,1% (TBO) i 65,0% (MB). Postotak smanjenja biofilma bio je 68,4% (CUR), 62,9% (ICG), 59,0% (TBO) i 47,6% (MB). Zaključak ovog istraživanja je bio da CUR i ICG imaju znatno veću antimikrobnu učinkovitost na *E. faecalis*, dok TBO i MB imaju znatno manji učinak na biofilm u usporedbi s ostalim PS-ovima (46).

Biofilm možemo definirati kao sesilnu zajednicu mikroorganizama čije su stanice ireverzibilno povezane sa supstratom i međusobno te uklopljene u izvanstanični matriks

polisaharidnih polimera koji su same stvorile, a ispoljavaju izmijenjen fenotip uslijed promijenjene brzine razmnožavanja i transkripcije gena koje ne uočavamo u planktonskih organizama (47). Kao takav, često je prisutan u korijenskim kanalima pa nije čudno da je nekoliko *in vitro* i *in vivo* studija provedeno u svrhu otkrivanja učinkovitosti fotodinamske terapije u uklanjanju bakterijskog biofilma u korijenskom kanalu.

Bakterije koje su najčešće ispitivane u biofilmu su *E. faecalis*, *S. intermedius*, *P. micros*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* (1, 5). Rezultati tih istraživanja bili su nešto lošiji u odnosu na one koje govore o utjecaju PDT-e na planktonske stanice. Razlog tome možemo pripisati samoj građi biofilma. Poznato je da atomarni kisik difundira otprilike 50 nm u dubini što naglašava važnost neposredne blizine fotoaktivatora i bakterijske stanice da dođe do difuzije. U biofilmu svega 30% ukupne mase čine bakterije, a sve ostalo je ekstracelularni polimerni matriks koji one same izlučuju i kroz koji PS mora prodrijeti. Zbog toga je potrebna puno veća razina energije da se eliminiraju bakterije u biofilmu nego planktonske stanice (6).

Također, poznato je i da bakterije u biofilmu stvaraju aktivne crpke pomoću kojih izbacuju amfifilne molekule i fotoaktivator izvan stanice. Danas postoje blokatori takvih crpki poput verapamila koji onda olakšavaju djelovanje PDT-e (5).

Stoga, možemo zaključiti da PDT nije dobar izbor kao samostalan tretman endodontskog prostora zuba, ali primijenjen nakon konvencionalnog protokola ispiranja značajno poboljšava dotadašnje rezultate. Ne postoji jedinstveni protokol o potrebnoj koncentraciji fotoaktivatora i dozama zračenja koji bi pokazali najbolju redukciju broja bakterija, pa bi daljnjim istraživanjima to trebalo unaprijediti.

Na temelju dosadašnjih istraživanja možemo zaključiti da PDT primijenjena nakon konvencionalnog endodontskog liječenja dodatno smanjuje broj bakterija u korijenskom kanalu u odnosu na samo konvencionalno ispiranje kanala. Iako još nema jasno definiranog protokola PDT-e koji bi rezultirao potpunom eradikacijom mikroorganizama, buduća istraživanja trebaju razjasniti potencijalno uvođenje PDT-e u svakodnevnu endodontsku praksu.

7. LITERATURA

1. Plotino G, Grande NM, Mercade M. Photodynamic therapy in endodontics. *Int Endod J.* 2019;52(6):760-74.
2. Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S, Kinoshita JI. Photodynamic Therapy in Endodontics. *J Contemp Dent Pract.* 2017;18(6):534-38.
3. Trindade AC, De Figueiredo JA, Steier L, Weber JB. Photodynamic therapy in endodontics: a literature review. *Photomed Laser Surg.* 2015;33(3):175-82.
4. Prazmo EJ, Kwaśny M, Łapiński M, Mielczarek A. Photodynamic therapy as a promising method used in the treatment of oral diseases. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(4):799-807.
5. Olivi G, Meire M. Photoactivated disinfection. In: Olivi G, De Moor R, Di Vito E. *Lasers in Endodontics.* Springer; London. 2016. p. 145-57.
6. Bettina Basrani. *Endodontic Irrigation: Chemical disinfection of the root canal system.* Toronto: Springer; 2015. p. 237-53.
7. Zorita-García M, Alonso-Ezpeleta LÓ, Cobo M et al. Photodynamic therapy in endodontic root canal treatment significantly increases bacterial clearance, preventing apical periodontitis. *Quintessence Int.* 2019;50(10):782-9.
8. Rosa LP, da Silva FC. Antimicrobial photodynamic therapy: A new therapeutic option to combat infections. *J Med Microb Diagn.* 2014;3(4):158.
9. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ, Wilson M. The effect of variable energy input from a novel light source on the photoactivated bactericidal action of toluidine blue O on *Streptococcus Mutans*. *Caries Res.* 2003;37(3):190-3.
10. Pourhajibagher M, Raoofian R, Ghorbanzadeh R, Bahador A. An experimental study for rapid detection and quantification of endodontic microbiota following photo-activated disinfection via new multiplex real-time PCR assay. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;21:344-50.
11. Soares JA, Soares S, de Jesus Tavares RR et al. Exploring different photodynamic therapy parameters to optimize elimination of *Enterococcus faecalis* in planktonic form. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;22:127-31.
12. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother.* 1998;42(1):13-28.
13. Bago I, Plečko V, Gabrić Pandurić D, Schauerperl Z, Baraba A, Anić I. Antimicrobial efficacy of a high-power diode laser, photo-activated disinfection, conventional and sonic activated irrigation during root canal treatment. *Int Endod J.* 2013;46:339-47.

14. Vaziri S, Kangarlou A, Shahbazi R, Nazari Nasab A, Naseri M. Comparison of the bactericidal efficacy of photodynamic therapy, 2.5% sodium hypochlorite, and 2% chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in root canals; an *in vitro* study. Dent Res J (Isfahan). 2012;9(5):613-8.
15. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K et al. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals *in vitro*. Lasers Surg Med. 2007;39(10):782-7.
16. Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. Periodontol 2000. 2011;55(1):143-66.
17. Rios A, He J, Glickman GN, Spears R, Schneiderman ED, Honeyman AL. Evaluation of photodynamic therapy using a light-emitting diode lamp against *Enterococcus faecalis* in extracted human teeth. J Endod. 2011;37(6):856-9.
18. Pagonis TC, Chen J, Fontana CR et al. Nanoparticle based endodontic antimicrobial photodynamic therapy. J Endod. 2010;36(2):322-8.
19. Fonseca MB, Junior PO, Pallota RC et al. Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. Photomed Laser Surg. 2008;26(3):209-13.
20. Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens *ex vivo*. Int Endod J. 2008;41:227-39.
21. Poggio C, Arciola CR, Dagna A et al. Photoactivated disinfection (PAD) in endodontics: an *in vitro* microbiological evaluation. Int J Artif Organs. 2011;34(9):889-97.
22. Nagayoshi M, Nishihara T, Nakashima K et al. Bactericidal effects of diode laser irradiation on *Enterococcus faecalis* using periapical lesion defect model. ISRN Dent. 2011;2011:870364.
23. Schlafer S, Vaeth M, Horsted-Bindslev P, Frandsen EV. Endodontic photoactivated disinfection using a conventional light source: an *in vitro* and *ex vivo* study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109(4):634-41.
24. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblim MR, Suzuki H, Ribeiro MS. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. J Endod. 2010;36(9):1463-6.
25. Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. Lasers Surg Med. 2001;29(2):165-73.

26. Siddiqui SH, Awan KH, Javed F. Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in infected root canals: a systematic literature review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2013;10(4):632-43.
27. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Nunez SC, Jorge AO, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med.* 2007;39(1):59-66.
28. Borba ASM, da Silva Pereira SM, Borba MCM et al. Photodynamic therapy with high-power LED mediated by erythrosine eliminates *Enterococcus faecalis* in planktonic forms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;19:348-51.
29. Hoedke D, Enseleit C, Gruner D et al. Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm *ex vivo*. *Int Endod J.* 2018;51 Suppl 1:e23-e34.
30. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ. Antibacterial action of photoactivated disinfection PAD used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. *J Dent.* 2006;34(6):363-71.
31. Soukos NS, Chen PS, Morris JT et al. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *J Endod.* 2006;32(10):979-84.
32. George S, Kishen A. Advanced noninvasive light-activated disinfection: assessment of cytotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2007;33(5):599-602.
33. George S, Kishen A. Influence of photosensitizer solvent on the mechanisms of photoactivated killing of *Enterococcus faecalis*. *Photochem Photobiol.* 2008;84(3):734-40.
34. Upadya MH, Kishen A. Influence of bacterial growth modes on the susceptibility to light-activated disinfection. *Int Endod J.* 2010;43(11):978-87.
35. Shrestha A, Hamblin MR, Kishen A. Characterization of a conjugate between Rose Bengal and chitosan for targeted antibiofilm and tissue stabilization effects as a potential treatment of infected dentin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(9):4876-84.
36. Shrestha A, Kishen A. The effect of tissue inhibitors on the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and photodynamic therapy. *J Endod.* 2012;38(9):1275-8.

37. Stojicic S, Amorim H, Shen Y, Haapasalo M. *Ex vivo* killing of *Enterococcus faecalis* and mixed plaque bacteria in planktonic and biofilm culture by modified photoactivated disinfection. *Int Endod J.* 2013;46(7):649-59.
38. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. Microbiological evaluation of photoactivated disinfection in endodontics (an *in vivo* study). *Br Dent J.* 2006;200(6):337-41.
39. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. An alternative regimen for root canal disinfection. *Br Dent J.* 2006;201(2):101-5.
40. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod.* 2008;34(2):138-42.
41. Jurič IB, Plečko V, Pandurić DG, Anić I. The antimicrobial effectiveness of photodynamic therapy used as an addition to the conventional endodontic re-treatment: a clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2014;11(4):549-55.
42. Silva LA, Novaes AB Jr, de Oliveira RR, Nelson-Filho P, Santamaria M Jr, Silva RA. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation. *J Endod.* 2012;38(3):360-6.
43. Souza MA, Pazinato B, Bischoff KF, Palhano HS, Cecchin D, de Figueiredo JAP. Influence of ultrasonic activation over final irrigants in the removal of photosensitizer from root canal walls after photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;17:216-20.
44. Xu Y, Young MJ, Battaglino RA et al. Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: safety assessment in mammalian cell cultures. *J Endod.* 2009;35(11):1567-72.
45. Gomes-Filho JE, Sivieri-Araujo G, Sipert CR et al. Evaluation of photodynamic therapy on fibroblast viability and cytokine production. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2016;13:97-100.
46. Pourhajibagher M, Kazemian H, Chiniforush N et al. Exploring different photosensitizers to optimize elimination of planktonic and biofilm forms of *Enterococcus faecalis* from infected root canal during antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:206-11.
47. Vraneš J, Leskovar V. Značenje nastanka mikrobnog biofilma u patogenezi i liječenju kroničnih infekcija. *Med Glas.* 2009;6(2):147-64.

8. ŽIVOTOPIS

Nikolina Kociper rođena je 19.10.1995. godine u Zadru. Ondje je završila Osnovnu školu Šimuna Kozičića Benje nakon čega upisuje Gimnaziju Franje Petrića (MIOC). Nakon uspješno položene državne mature, 2014.godine, upisuje se na Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.