

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОРФОМЕТРИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ IN VIVO

## COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECT OF LASER RADIATION ON THE REGENERATION OF PERIODONTAL TISSUES IN AN EXPERIMENTAL MORPHOMETRIC STUDY IN VIVO

**A. Chunikhin  
E. Bazikyan**

*Summary.* The aim of the study was to compare the effectiveness of complex therapy of model periodontitis in rats using a new generation nanosecond laser apparatus with a wavelength of  $1265 \pm 5$  nm and photodynamic laser therapy with a wavelength of 660 nm using a morphometric study. Periodontitis was simulated in experimental animals (rats  $n = 70$ ), divided into 3 groups — the main ( $n = 30$ ), comparisons ( $n = 30$ ) and controls ( $n = 10$ ), and complex therapy of periodontitis. In the main group, using a nanosecond laser device for medical use with a wavelength of 1265 nm, a photodynamic laser therapy with a wavelength of 660 nm was used in the comparison group, only traditional therapy including mechanical curettage of periodontal pockets and antiseptic treatment was used in the control group. To conduct morphological studies, the animals were withdrawn from the experiment on days 7, 14 and 21. The results of a quantitative morphometric evaluation of the full-blood vessels in the periodontal ligament showed that the number of vessels in the periodontal ligament on day 7 in the main group was  $2.8 \pm 0.29$ , in the comparison group  $5.3 \pm 0.42$ ; on day 14 in the main group  $3.2 \pm 0.30$ , in the comparison group  $3.7 \pm 0.26$ ; on day 21 in the main group, the average number of full blood vessels in the field of view of the microscope was  $5.2 \pm 0.32$ ; in the comparison group  $1.8 \pm 0.15$ , in the control group  $2.2 \pm 0.28$  ( $p < 0.05$ ). The results of the morphometric study showed the high efficiency of a new photocoagulation technique without photosensitizers using laser nanosecond microsurgery in the treatment of periodontitis in rats compared with conventional photodynamic therapy. The use of a new technique of nanosecond laser therapy to complex therapy of periodontitis promotes the creation of reactive inflammation in tissues and stimulation of vascular growth to accelerate the regeneration of periodontal tissues.

*Keywords:* laser radiation, semiconductor laser, photodynamic effect, periodontitis, periodontal tissue regeneration.

**Чунихин Андрей Анатольевич**

*К.м.н., доцент, Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова  
docca74@yandex.ru*

**Базикян Эрнест Арамович**

*Д.м.н., профессор, Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова*

*Аннотация.* Целью исследования сравнение эффективности комплексной терапии модельного пародонтита у крыс с применением наносекундного лазерного аппарата нового поколения с длиной волны  $1265 \pm 5$  нм и фотодинамической лазерной терапии с длиной волны 660 нм с помощью морфометрического исследования. У экспериментальных животных (крыс  $n=70$ ) моделировали пародонтит, делили на 3 группы — основная ( $n=30$ ), сравнения ( $n=30$ ) и контроля ( $n=10$ ), проводили комплексную терапию пародонтита. В основной группе с использованием наносекундного лазерного устройства для медицинского применения с длиной волны 1265 нм, в группе сравнения применяли методику фотодинамической лазерной терапии с длиной волны 660 нм, в контрольной группе использовали только традиционную терапию, включающую механический кюретаж пародонтальных карманов и антисептическую обработку. Для проведения морфологических исследований животных выводили из эксперимента на 7, 14 и 21 сутки. Результаты количественной морфометрической оценки полнокровных сосудов в периодонтальной связке показали, что количество сосудов в периодонтальной связке на 7 сутки в основной группе составило  $2,8 \pm 0,29$ , в группе сравнения  $5,3 \pm 0,42$ ; на 14 сутки в основной группе  $3,2 \pm 0,30$ , в группе сравнения —  $3,7 \pm 0,26$ ; на 21 сутки в основной группе среднее количество полнокровных сосудов в поле зрения микроскопа составило  $5,2 \pm 0,32$ ; в группе сравнения  $1,8 \pm 0,15$ , в контрольной группе —  $2,2 \pm 0,28$  ( $p < 0,05$ ). Результаты морфометрического исследования показали высокую эффективность новой методики фотоокситерапии без фотосенсибилизаторов с использованием лазерной наносекундной микрохирургии при лечении пародонтита у крыс по сравнению с традиционной фотодинамической терапией. Использование новой методики наносекундной лазерной терапии к комплексной терапии пародонтитов способствует созданию реактивного воспаления в тканях и стимуляции роста сосудов для ускорения регенерации тканей пародонта.

*Ключевые слова:* лазерное излучение, полупроводниковый лазер, фотодинамический эффект, пародонтит, регенерация тканей пародонта.

**З**аболевания пародонта относятся к сложной патологии полости, часто поражают лиц молодого возраста, имеют высокую распространенность среди населения, являются наиболее частой причиной потери зубов. Пародонтопатогены, вызывающие развитие заболевания, обладают высокой резистентностью к медикаментозной терапии [1]. Комплексный подход с включением физических факторов определяет эффективность терапии болезней пародонта. Наиболее перспективным направлением в лечении данной патологии является применение лазерных технологий. Уникальные свойства лазерного излучения способствуют высокой точности воздействия на патологические ткани без поражения здоровых тканей, а широкие возможности современных медицинских лазерных аппаратов в управлении параметрами излучения позволяют подобрать оптимальные гармоник для проведения эффективного лечения [2]. Биостимулирующее действие лазерного света способствует устойчивой длительной ремиссии заболевания [3].

Исследования современных ученых показывают, что максимальная проникаемость тканей для лазерного света находится в области излучения 900–1500 нм, а использование ультракоротких импульсов излучения позволяет проникать световому потоку глубже в ткани без их существенного нагрева [4]. Параметры излучения определяют воздействие на биологические ткани. В зависимости от параметров излучения — длины волны, частоты излучения, экспозиции, наблюдаются различные эффекты — тепловой, биохимический, биофизический, фототермический. Современным малоинвазивным методом фотохимического воздействия лазерного излучения на ткани является фотодинамическая терапия, в основе которой лежит свойство веществ (фотосенсибилизаторов), содержащих кислород и чувствительных к световому излучению определенной длины волны, выделять активные формы кислорода (синглетный кислород), обладающие цитотоксическим действием и запускающие реакции перекисного окисления с выделением свободных радикалов [5–6].

Эксперименты, проведенные ранее, показали возможность проведения фотодинамических реакций в тканях без экзогенных фотосенсибилизаторов за счет воды и молекулярного кислорода. Максимум поглощения эндогенного кислорода в тканях находится в диапазоне длин волн 1265–1275 нм [7]. Исследования, проведенные нами ранее в модельных биохимических средах, доказывают возможность прямой генерации синглетного кислорода при воздействии лазерного излучения в данном диапазоне [8].

Современные научные исследования направлены на поиск новых возможностей лазерного излучения для применения в медицине. Ультракороткое импуль-

сное излучение, например в наносекундном или фемтосекундном диапазоне способствует более глубокому проникновению в ткани без существенного их нагрева [9]. Тонкие световоды, используемые в современных лазерных излучателях, позволяют проводить прецизионную терапию. Интересным научным поиском является возможность совмещения свойств лазерного излучения для проведения микрохирургических операций с биостимулирующим действием.

Разработанный нами, лазерное медицинское устройство на полупроводниковых кристаллах имеет уникальные параметры излучения и компактные размеры, что способствует его использованию в роботической лазерной хирургии [10]. Данное устройство уже прошло множество экспериментальных исследований, в том числе по изучению эффективности наносекундного лазера с длиной волны  $1265 \pm 5$  нм в лечении модельного пародонтита у экспериментальных животных (крыс) *in vivo* с применением лазерной микрохирургии и фотоситерапии [11]. Для понимания механизмов воздействия нового лазерного аппарата необходимы сравнительные морфометрические исследования.

### Цель исследования

сравнить эффективность комплексной терапии модельного пародонтита у крыс с применением наносекундного лазерного аппарата нового поколения с длиной волны  $1265 \pm 5$  нм и фотодинамической лазерной терапии с длиной волны 660 нм с помощью морфометрического исследования.

### Материалы и методы

Экспериментальное исследование проводили с использованием крыс — особей мужского пола весом 200–250 гр линии Wistar в соответствии с Директивой ЕС 86/609/ЕСС и Конвенцией Совета Европы по защите позвоночных животных используемых для экспериментальных и других научных целей (1986). Всего в эксперименте участвовало 70 животных поделенных на 3 группы. Всем животным проводили моделирование пародонтита с использованием шелковой лигатуры, введенной под разрушенную с помощью гладилки круговую связку нижних резцов, и фиксировали восьмьюобразным швом вокруг них (рис. 1а). Моделирование пародонтита у экспериментальных животных соответствует усовершенствованной методике, предложенной проф. А. И. Воложиным в 1990 году [12]. В основной группе ( $n=30$ ) для лечения использовали новое лазерное-диодное устройство, принцип действия которого основан на образовании электромагнитной оптической энергии в узкополосном диапазоне ближней инфракрасной области  $1265 \pm 5$  нм, реализованном на основе квантоворазмерных двой-



Рис. 1. Картина в полости рта экспериментальных животных при: А — моделировании пародонтита, Б — проведения лечения с использованием лазерного аппарата без фотосенсибилизатора, В — нанесение фотосенсибилизатора (геля) в зубо-десневые карманы, Г — проведение лазеротерапии после удаления фотосенсибилизатора.

ных гетероструктур раздельного ограничения InGaAsP/InP с драйвером управления настроенным на излучение в наносекундном импульсном диапазоне. Устройство имеет настраиваемые диапазоны импульсности со скважностью 400 нс, паузой от 100 до 900 нс, частотой импульсов 50 кГц, мощность устройства регулируется в пределах от 0,2 Вт до 2 Вт. Проведенные ранее экспериментальные исследования позволили определить оптимальные параметры лазерного излучения для лечения заболеваний пародонта, поэтому для проведения лечения использовали мощность 1,8 Вт с экспозицией 180 сек. При проведении лечения, световод погружали в пародонтальный карман, после этого включали лазерное излучение, затем совершали круговые движения с помощью световода, при этом удаляя грануляции с помощью лазерного излучения с одновременным проведением фотоокситерапии за счет выделения синглетного кислорода в тканях (рис. 1б). Во второй группе сравнения (n=30) применяли методику лазерной фотодинамической терапии с применением экзогенного фотосенсибилизатора хлоринового ряда и непрерывного лазерного излучения с длиной волны 660 нм. Для этого в пародонтальные карманы наносили гель-пенетратор с экспозицией 10 мин (рис. 1в), затем остатки геля смывали с помощью физиологического раствора и после этого проводили облучение лазерным светом в течение 5 мин (рис. 1г). Таким образом, общее время процедуры в данной группе составило 900 сек, что в 5 раз дольше, чем в основной группе. В третьей группе контроля (n=10) использовали традиционный метод лечения пародонтита, включающий в себя первичную механическую обработку пародонтальных карманов с применением кю-

рет и последующую медикаментозную антисептическую обработку. Лазеротерапию в основной группе и группе сравнения проводили по следующей схеме — первые 7 дней каждый день, затем 7 дней перерыв, после этого еще недельных курс лазеротерапии.

Животных выводили из эксперимента на 7, 14 и 21 сутки для изучения с помощью гистоморфометрии. Для морфологического исследования после эвтаназии у животных отделяли фрагмент нижней челюсти с центральными резцами, который фиксировали в 10% растворе формалина, затем изготавливали гистологические срезы по общепринятой методике с окраской гематоксилин-эозином, которые исследовали и фотографировали на микроскопе Axio Lab.A1 (Carl Zeiss Microscopy, Германия). Качественную оценку, полученных гистологических препаратов проводили с целью изучения отека периодонтальной связки, выраженности полнокровия сосудов периодонта, репарации костной ткани в области зубо-десневого сегмента на разных этапах лечения. Для проведения количественной оценки неоваскуляризации тканей пародонта вычисляли общее число сосудов в поле зрения микроскопа в 10 случайным образом отобранных полях зрения. Результаты обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения MS Office Excel, представляли в виде среднего значения  $\pm$  стандартное квадратическое отклонение ( $M \pm \sigma$ ).

#### Результаты исследования

По результатам морфологического исследования можно провести качественную оценку состояния тка-

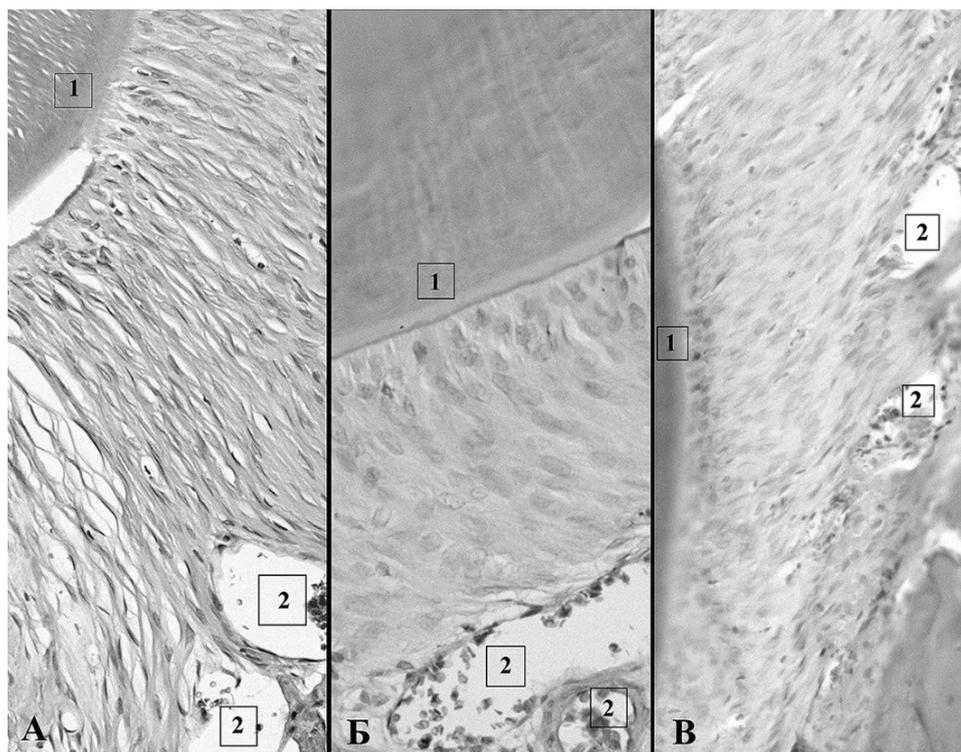


Рис. 2. Морфологические сканы в основной группе (I) на разных этапах наблюдения: А — 7 сутки, Б — 14 сутки, В — 21 сутки, где: 1 — цемент корня зуба, 2 — полнокровные сосуды в периодонтальной связке. Окраска гематоксилин-эозином,  $\times 120$

ней пародонта на разных этапах наблюдения и количественную оценку воздействия лазерного излучения на репаративный остеогенез по биостимулирующему действию на неоваскуляризацию пародонтальной связки в результате проведенного лечения. На 7 сутки после проведения лечения в основной группе наблюдался выраженный отек ткани периодонтальной связки, полнокровие сосудов глубже расположенных сохранных участков периодонтальной связки (рис. 2а). На 14 сутки в данной группе отмечались участки частично восстановленной, с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба, отечной периодонтальной связки, умеренно выраженный отек ткани и полнокровие сосудов сохранных участков периодонтальной связки (рис. 2б). На 21 сутки в основной группе наблюдался умеренно выраженный отек ткани регенерировавшей, богатой фибробластами, периодонтальной связки с расширенными полнокровными сосудами на границе с костными балками альвеолярной кости, большое количество полнокровных сосудов в периодонтальной связке (рис. 2в).

В группе сравнения на 7 сутки наблюдения отмечались очаги частично восстановленной, с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, на-

правленными перпендикулярно корню зуба, отечной периодонтальной связки, более выраженное полнокровие сосудов в периодонтальной связке по сравнению с основной группой (рис. 3а). На 14 сутки наблюдения в группе сравнения наблюдался умеренно выраженный отек ткани периодонтальной связки, видимых морфологических различий по количеству наполненных сосудов в периодонтальной связке по сравнению с основной группой не наблюдалось (рис. 3б). На 21 сутки в группе сравнения наблюдали практически завершённый процесс репарации зубодесневого сегмента, единичные сосуды в области исследования (рис. 3в).

Результаты количественной морфометрической оценки полнокровных сосудов в периодонтальной связке на разных этапах наблюдения подтверждают качественную морфологическую оценку и представлены в таблице 1. Количество сосудов ( $M \pm \sigma$ ) в периодонтальной связке на границе с альвеолярной костью на 7 сутки в основной группе составило  $2,8 \pm 0,29$ , в группе сравнения  $5,3 \pm 0,42$ ; на 14 сутки в основной группе  $3,2 \pm 0,30$ , в группе сравнения —  $3,7 \pm 0,26$ ; на 21 сутки в основной группе среднее количество полнокровных сосудов в поле зрения микроскопа составило  $5,2 \pm 0,32$ ; в группе сравнения  $1,8 \pm 0,15$ , в контрольной группе —  $2,2 \pm 0,28$  при статистически достоверной разнице ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1. Результаты морфометрической оценки количества полнокровных сосудов на разных этапах наблюдения (M±σ).

Сутки эксперимента	Группа		
	I Группа (основная)	II Группа (сравнения)	III Группа (контроль)
7	2,8±0,29	5,3±0,42	-
14	3,2±0,30	3,7±0,26	-
21	5,2±0,32*	1,8±0,15	2,2±0,28

\*разница статистически значима (p=0,000001) между показателем основной группы и группы сравнения

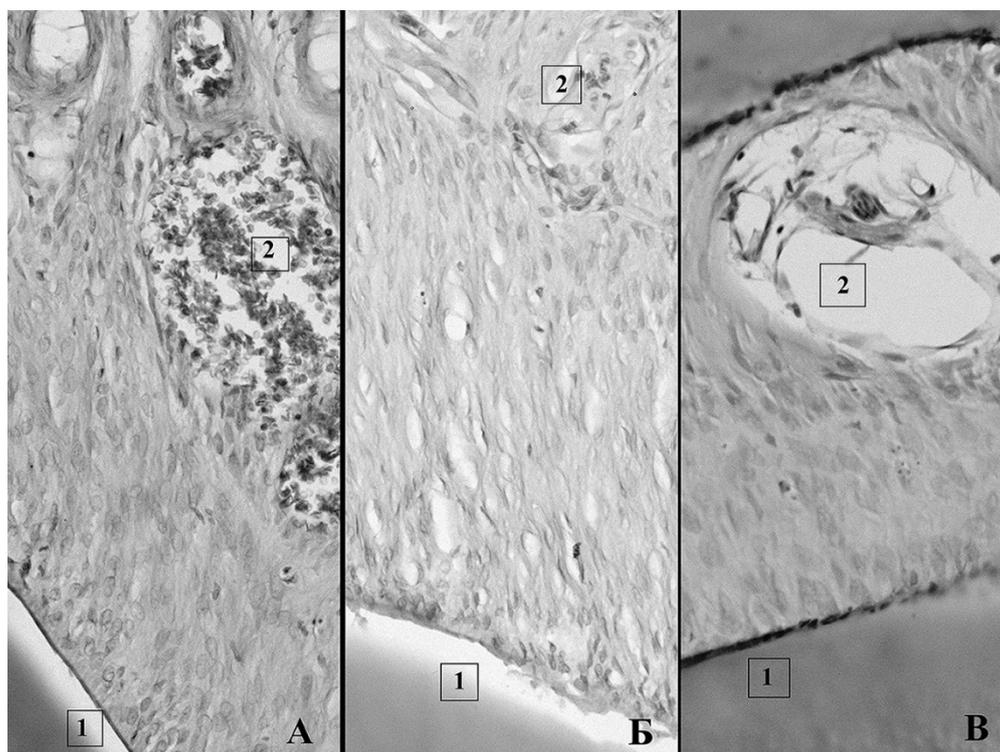


Рис. 3. Морфологические сканы в группе сравнения (II) на разных этапах наблюдения: А — 7 сутки, Б — 14 сутки, В — 21 сутки, где: 1 — цемент корня зуба, 2 — полнокровные сосуды в периодонтальной связке. Окраска гематоксилин-эозином, x120

Проведенные исследования показали, что использование лазерного излучения с длиной волны 1265±5 нм в наносекундном импульсном режиме при лечении пародонтита способствует увеличению количества сосудов на 21 сутки лечения в периодонтальной связке по сравнению с применением традиционной фотодинамической терапии с длиной волны 660 нм, при которой наблюдается уменьшение количества сосудов. Возможно, угнетение роста сосудов на заключительных этапах лечения при использовании данного вида лазеротерапии, связано с токсическим действием фотосенсибилизатора на ткани.

### Заключение

Результаты морфологического и морфометрического исследований в сравнительной оценке фотоокситерапии без фотосенсибилизаторов с использованием лазерной наносекундной микрохирургии и традиционной фотодинамической терапии при лечении пародонтита у крыс показали высокую эффективность новой методики, способствующей ускорению регенерации тканей пародонта за счет реактивного воспаления и стимулирования роста сосудов. Кроме этого, методика лазеротерапии в комплексном лечении болезней пародонта с исполь-

зованием фотоокситерапии без фотосенсибилизаторов с длиной волны  $1265 \pm 5$  нм в наносекундном импульсном режиме излучения имеет преимущество для применения в клинической практике — сокращение времени процедуры и значительно более низкую себестоимость за счет отсутствия фотосенсибилизаторов, имеющих достаточно высокую цену и сложность производства.

Пролиферативный рост сосудов при использовании данного вида лазеротерапии в комплексном лечении болезней пародонта и реактивное воспаление в тканях пародонта на ранних этапах лечения способствуют достижению устойчивого терапевтического эффекта и длительной ремиссии, что обуславливает перспективность применения данной методики в клинической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Янушевич О.О., Дмитриева Л. А., Ревазова З. Э. Пародонтит XXI век. Руководство для врачей. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016: 482 с.
2. Farivar S. Malekshahabi T., Shari R. Biological Effects of Low Level Laser Therapy // J Lasers Med Sci. 2014. Vol. 5(2). P. 58–62
3. Закиров Т. В. Современные представления о возможности использования лазера при лечении воспалительных заболеваний пародонта // Проблемы стоматологии. — 2012. — № 3. — С. 10–14
4. Башкатов А.Н., Генина Э. А., Приезжев А. В., Тучин В. В. Лазерная биофотоника // Квантовая электроника, 2016. — Т. 46(№ 6). — С. 487.
5. Генина Э. А. Методы биофотоники: фототерапия. // Саратов «Новый ветер», Учебное пособие, 2012—119 с.
6. Zakharov S.D., Ivanov A. V. Light-oxygen effect as a physical mechanism for activation of biosystems by quasi-monochromatic light (a review). Biophysics. 2005. T. 50(1):64–85.
7. Захаров С.Д., Иванов А. В., Корочкин И. М., Данилов В. Н. Прямое возбуждение фотонами эндогенного молекулярного кислорода — фотофизический акт терапевтического действия лазерного излучения. Лазерная медицина. 2006. Т. 10. № 1. С. 4–9.
8. Чунихин А.А., Базилян Э. А., Сырникова Н. В., Чобанян А. Г. Сравнительная оценка эффективности генерации синглетного кислорода лазерным наносекундным модулем робототехнического хирургического комплекса в модельных биохимических средах // Российская стоматология. — 2017. — Т. 10 (2). — С. 30–35
9. Воронова О.С., Генинг Т. П., Светухин В. В. Влияние фемтосекундного лазерного излучения на показатели оксидативного стресса в опухолевой ткани при экспериментальном раке шейки матки // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 1. — С. 24–27
10. Чунихин А.А., Базилян Э. А., Зайратьянц О. В. Оценка эффективности наносекундной лазерной терапии болезней пародонта в эксперименте // Российская стоматология. — 2017. — Т. 10 (4). — С. 3–7 doi.org/10.17116/rosstomat20171043–7
11. Базилян Э.А., Чунихин А. А. Малоинвазивные лазерные технологии на основе роботизированных мультифункциональных комплексов в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии // Российский стоматологический журнал. — 2016. — Т. 20. — № 5. — С. 228–231
12. Воложин А. И. Моделирование и лечение воспаления в пародонте // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1990 № 6. С. 49–51.

© Чунихин Андрей Анатольевич ( docca74@yandex.ru ), Базилян Эрнест Арамович.  
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»