

<https://doi.org/10.17116/rosstomat20171043-7>

Оценка эффективности наносекундной лазерной терапии болезней пародонта в эксперименте

К.м.н. А.А. ЧУНИХИН^{1*}, д.м.н., проф. Э.А. БАЗИКЯН¹, д.м.н., проф. О.В. ЗАЙРАТЬЯНЦ²

¹Кафедра хирургии полости рта (зав. — д.м.н., проф. Э.А. Базикян) стоматологического факультета Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия; ²кафедра патологической анатомии (зав. — д.м.н., проф. О.В. Зайратьянц) лечебного факультета Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования — разработать методику и доказать эффективность наносекундной лазерной синглетной окситерапии при лечении болезней пародонта в экспериментальном морфологическом исследовании. **Материал и методы.** Эксперименты проводили на крысах-самцах стока Wistar, разделенных на три группы. В каждой группе моделировали пародонтит, проводили лечение в течение 7 дней. В 1-й группе проводили лазерный кюретаж карманов с использованием наносекундного лазерного модуля, разработанного исследовательской группой кафедры хирургии полости рта МГМСУ им. А.И. Евдокимова, без использования фотосенсибилизаторов. Во 2-й группе применяли методику стандартной фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора. В 3-й группе применяли традиционное лечение пародонтита: закрытый кюретаж и антисептическую обработку пародонтальных карманов. Животных выводили из эксперимента на 7, 14 и 21-е сутки для проведения качественного морфологического исследования. **Результаты.** Экспериментальное исследование показывает отсутствие существенных различий в терапевтическом эффекте на гистоморфологическом уровне при проведении лазерной наносекундной фотодинамической терапии без использования фотосенсибилизаторов и классической методики фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов. Вместе с тем при использовании лазерного наносекундного излучения на морфологических срезах на 21-й день эксперимента наблюдалось большее полнокровие сосудов пародонта, что может способствовать васкуляризации и стойкой ремиссии в перспективе. **Заключение.** Результаты морфологического исследования позволяют рекомендовать использование лазерной наносекундной фотодинамической терапии без фотосенсибилизаторов для клинического применения и усовершенствования методов лечения болезней пародонта.

Ключевые слова: лазерное излучение, синглетный кислород, фотодинамический эффект.

Estimation of the effectiveness nanosecond laser therapy of periodontal diseases in the experiment

A.A. CHUNIKHIN¹, E.A. BAZIKYAN¹, O.V. ZAYRATYANTS²

¹Department of oral surgery (head — E.A. Bazikyan) Faculty of Stomatology, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov Russian Ministry of Health, Moscow, Russia; ²Department of pathological anatomy (head — E.A. Bazikyan) Faculty of Medicine, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov Russian Ministry of Health, Moscow, Russia

The aim of the investigation is to develop a technique and prove the effectiveness of nanosecond laser singlet oxotherapy in the treatment of periodontal diseases in an experimental morphological study. **Material and methods.** The study was carried out on experimental animals of male Wistar drain mice, divided into three groups. In each group, periodontitis was modeled, and treatment was performed in 7 days. In the first group, a laser curettage of pockets was performed using a nanosecond laser module, developed by the research group of the Oral Surgery Department of Moscow State Medical University. A.I. Evdokimova, without the use of photosensitizers. In the second Group, a photosensitizer was used to produce standard photodynamic therapy. Group III used the traditional treatment of periodontitis: closed curettage and antiseptic treatment of periodontal pockets. The animals were withdrawn from the experiment on days 7, 14 and 21 for a qualitative morphological study. **Results.** An expert study proves that there is no significant difference in the therapeutic effect at the histomorphological level in using laser nanosecond photodynamic therapy without the use of photosensitizers and the classical technique of photodynamic therapy with the use of photosensitizers. At the same time, using laser nanosecond radiation on morphological sections for 21 days showed that, more periodontal vasodilatation was observed, which can contribute to vascularization and persistent remission in the future. **Conclusion.** The results of the morphological study allow us to recommend the use of laser nanosecond photodynamic therapy without photosensitizers for clinical use to improve the methods of treating periodontal diseases.

Keywords: laser radiation, singlet oxygen, photodynamic effect.

Применение лазерных технологий является наиболее перспективным в терапии заболеваний пародонта. Благодаря бесконтактному воздействию лазерного излучения обеспечивается стерильность

операционного поля, минимальные болевые ощущения во время манипуляций и минимальный деструктивный эффект [1].

Исследования по изучению биостимулирующих свойств низкоинтенсивного лазерного излучения, в том числе направленных на регенерацию костной ткани и тканей пародонта, ведутся постоянно современными учеными [2].

Воздействие на ткани биологического организма лазерного излучения может протекать с получением фотохимических, фотофизических, фототермических, фотомеханических и комбинированных эффектов. В основе фотохимического эффекта лежит поглощение энергии лазерного излучения с распадом молекулы, высвобождением электрона и образованием положительно заряженного иона. Одной из разновидностей фотохимических реакций является фотодинамическая терапия. Применение низкоэнергетического лазерного излучения, в том числе фотодинамической лазерной терапии, в комплексном лечении болезней пародонта является перспективным направлением научных исследований [3, 4].

При проведении фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов в результате фотохимических процессов происходят реакции с образованием синглетного кислорода и свободных радикалов, ведущие к повреждению патологических клеток и микроорганизмов [5, 6]. Синглетный кислород является метастабильным состоянием молекулярного кислорода с высокой энергией, что обуславливает выраженное повреждающее действие клеток за счет активации свободнорадикальных реакций, взаимодействия с белками и макромолекулами патологических тканей.

При всех плюсах фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов при лечении заболеваний пародонта существует и масса недостатков метода, к которым в первую очередь относится несовершенство самих фотосенсибилизаторов. Помимо высокой стоимости они обладают недостаточной селективностью по отношению к патологическим тканям, что обуславливает высокую токсичность по отношению к здоровым тканям за счет длительности снижения концентрации после проведения терапии [7].

На сегодняшний день доказана возможность генерации синглетного кислорода в экспериментальных исследованиях, проведенных с использованием биохимических сред и биологических жидкостей с применением лазерного излучения с длиной волны, близкой к 1270 нм [8, 9].

Световой поток импульсного лазерного излучения с применением наносекундного режима за счет высокой пиковой мощности позволяет проникать глубже в ткани без существенного их повреждения.

Использование ультракоротких лазерных импульсов (фемто-, пико-, наносекундных) позволяет

проникать световому потоку глубже в ткани без их существенного нагрева.

Группой исследователей кафедры хирургии полости рта МГМСУ им. А.И. Евдокимова разработан лазерный модуль с уникальными параметрами для проведения фотоокситерапии без фотосенсибилизаторов и микрохирургии с использованием наносекундного импульсного режима излучения [10].

Цель работы — разработать методику и доказать эффективность наносекундной лазерной синглетной окситерапии при лечении болезней пародонта в экспериментальном морфологическом исследовании.

Материал и методы

Для проведения исследования использовали новый лазерный модуль, разработанный исследовательской группой, с возможностью проведения лазерной микрохирургии с эффектами синглетной окситерапии без фотосенсибилизатора. Для сравнения использовали лазерный аппарат со стандартными параметрами для проведения фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором.

Эксперименты проведены на крысах-самцах стока Wistar 10-недельного возраста, разделенных на три группы с моделированием пародонтита в области нижних резцов с помощью шелковой лигатуры. Для этого под внутримышечным наркозом нарушали круговую связку с помощью гладилки, затем восьмиобразно вокруг зубов фиксировали лигатуру с помощью фосфат-цемента (рис. 1). Через 7 сут лигатуру удаляли и начинали лечение. В 1-й группе (экспериментальная) проводили лазерный кюретаж карманов с использованием наносекундного лазерного излучения с эффектом синглетной окситерапии без фотосенсибилизаторов со средней мощностью излучения 2 Вт и плотностью излучения 200 Дж/см² в течение 3 мин. Во 2-й группе (сравнения) лечение осуществлялось с применением фотодинамической терапии по стандартной методике: наносили гель-пенетратор в зубодесневые карманы с экспозицией 5 мин, проводили облучение лазером с целью проведения фотодинамической терапии. После окончания процедуры гель смывали с использованием физиологического раствора из шприца под давлением. В 3-й группе (контрольная) использовали традиционный метод лечения пародонтита с проведением закрытого кюретажа, медикаментозной антисептической терапии и антисептических десневых повязок. Во всех группах срок лечения составлял 7 сут.

Вывод животных из эксперимента в 1-й и 2-й группах совершали на 7, 14, и 21-е сутки, в контрольной — на 21-е сутки. Фрагмент нижней челюсти животных, включающий область проведения терапии, выделяли с помощью костных кусачек,

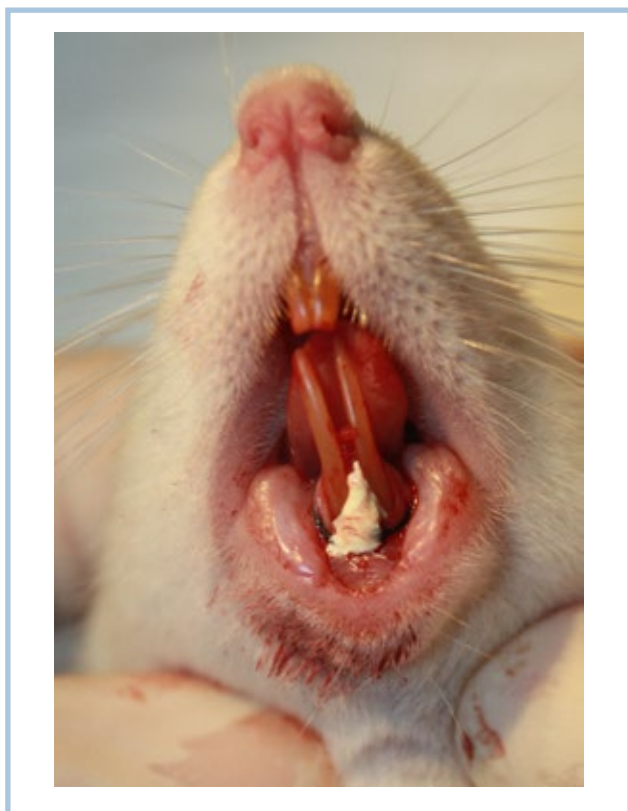


Рис. 1. Наложение лигатуры в десневую борозду и фиксация с помощью фосфат-цемента.

фиксируют в 10% растворе формалина, затем изготавливали гистологические срезы с окраской гематоксилином и эозином, которые исследовали и фотографировали на микроскопе Axio Lab.A1 (Германия).

Результаты

По результатам морфологического исследования срезов тканей пародонта экспериментальных животных в 1-й группе на 7-е сутки выявлялась разрушенная на большом протяжении периодонтальная связка с замещением разрастаниями грануляционной ткани с полнокровными сосудами и выраженной диффузной лейкоцитарной инфильтрацией с примесью макрофагов. В сохранных участках периодонтальной связки определялся ее выраженный отек и полнокровные сосуды (**рис. 2**). В группе сравнения (2-я) на 7-е сутки на микрофотографиях морфологических срезов определялись участки разрушенной периодонтальной связки, замещенные грануляционной тканью с диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов. Отмечались очаги частично восстановленной, с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба, отекающей периодонтальной связки (**рис. 3**).

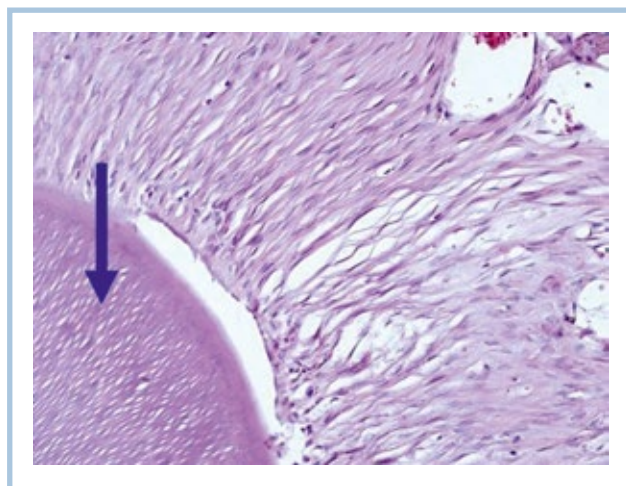


Рис. 2. Выраженный отек ткани периодонтальной связки и полнокровные сосуды глубже расположенных сохранных участков.

Стрелкой указан цемент корня зуба: Здесь и на рис. 3—8: окраска гематоксилином и эозином. Ув. 120.

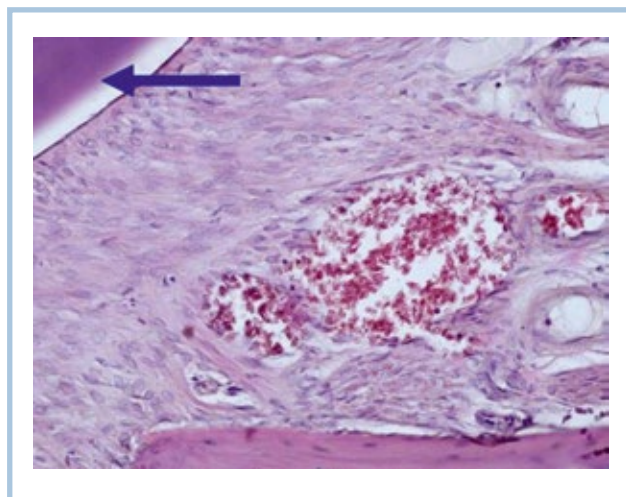


Рис. 3. Выраженный отек ткани периодонтальной связки и полнокровные сосуды сохранных участков периодонтальной связки.

Стрелкой указан цемент корня зуба. Ув. 200

На 14-е сутки у животных 1-й группы отмечались участки частично восстановленной, с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба, отекающей периодонтальной связки с полнокровными сосудами и слабо выраженной диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов (**рис. 4**). Во 2-й группе на 14-е сутки определялась частично восстановленная периодонтальная связка, преимущественно с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба (**рис. 5**).

На 21-е сутки у крыс 1-й группы отмечалось регенерирование ткани периодонтальной связки с

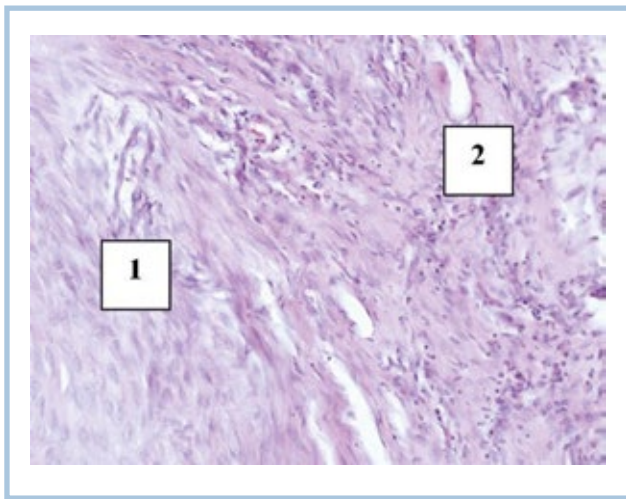


Рис. 4. Частично восстановленная отечная периодонтальная связка.

Параллельные пучки коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба (1) с разрастаниями грануляционной ткани с полнокровными сосудами, слабо выраженной диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов (2). Ув. 120.

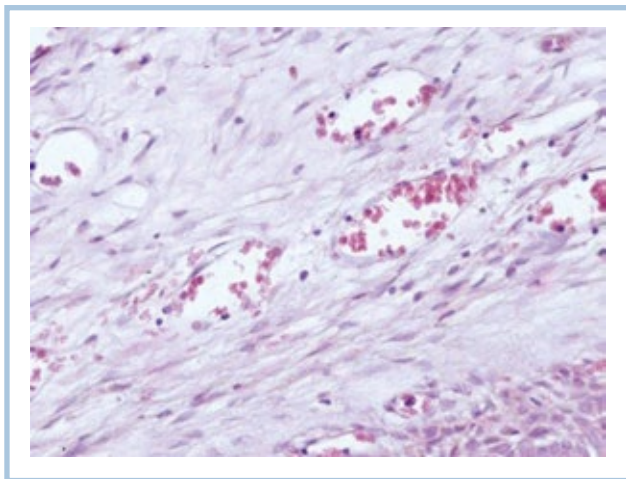


Рис. 5. Частично восстановленная, преимущественно с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, направленных перпендикулярно корню зуба, отечная периодонтальная связка с множеством полнокровных сосудов.

Ув. 200.

умеренно выраженным отеком, богатой фибробластами с расширенными полнокровными сосудами на границе с костными балками альвеолярной кости. Встречались сохранившиеся мелкие очаги грануляционной ткани с выраженным отеком, полнокровными сосудами и единичными лейкоцитами (рис. 6). В группе сравнения на 21-е сутки эксперимента отмечали регенерировавшую пародонтальную связку, богатую фибробластами с параллельными пучками коллагеновых и эластических волокон, перпендикулярных корню зуба. Выявлялись сохранившиеся мелкие очаги грануляционной ткани с

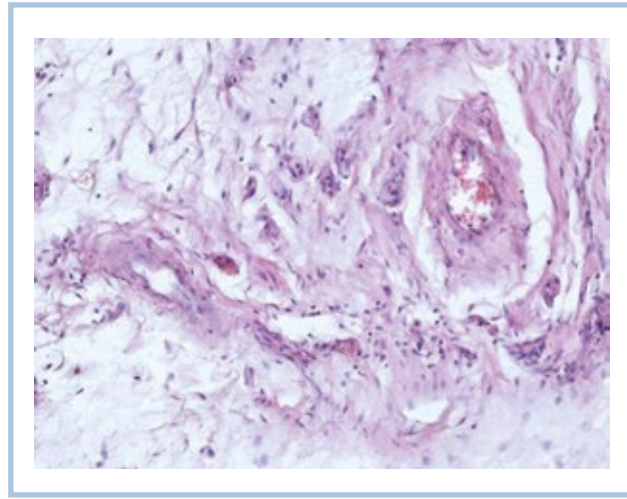


Рис. 6. Периодонтальная связка с сохранившимися мелкими очагами грануляционной ткани с выраженным отеком, полнокровными сосудами и единичными лейкоцитами с примесью макрофагов.

Ув. 120.

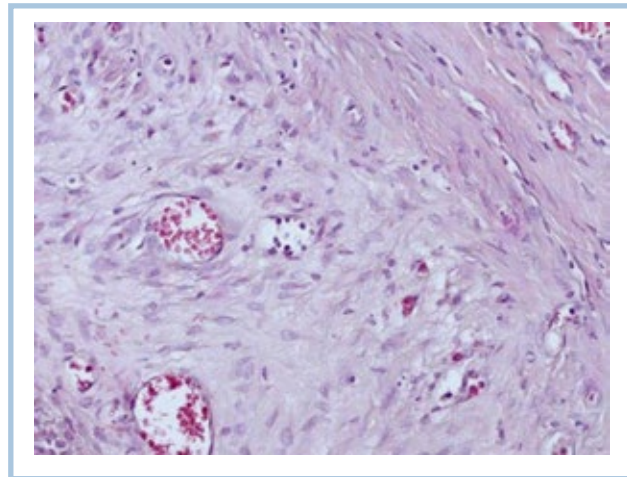


Рис. 7. Периодонтальная связка с сохранившимися мелкими очаги грануляционной ткани с полнокровными сосудами без отека и воспалительной инфильтрации, с единичными макрофагами и лимфоцитами.

Ув. 200.

полнокровными сосудами без отека и воспалительной инфильтрации (рис. 7). В 3-й контрольной группе на 21-е сутки эксперимента отмечали значительно разрушенную и замещенную грануляционной тканью периодонтальную связку с диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов. Среди разрастаний грануляционной ткани с полнокровными сосудами, диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов, на месте периодонтальной связки, обнаруживались единичные микроабсцессы (рис. 8).

Таким образом, на 7-е сутки эксперимента в группе сравнения с применением классической методики фотодинамической терапии отмечалась морфологическая картина чуть более быстрого вос-

становления структуры периодонтальной связки. На 14-е сутки принципиальных морфологических различий в сравнении с 7-ми сутками выявлено не было. Полнокровие сосудов отмечалось в обоих наблюдениях. На 21-е сутки эксперимента наблюдали морфологически фактически завершенные процессы репарации зубодесневого сегмента. В экспериментальной группе с применением новой методики наносекундной лазерной фотоокситерапии без использования фотосенсибилизаторов на 21-е сутки морфологически выявлялось несущественное сохранение отека, более выраженное полнокровие и слабовыраженная воспалительная инфильтрация регенерирующей периодонтальной связки.

Заключение

Таким образом, с помощью морфологического исследования доказано, что применение разработанного лазерного модуля для лечения заболеваний пародонта подтверждает эффективность лазерной микрохирургии с применением синглетной фотоокситерапии без использования экзогенных фотосенсибилизаторов. Вместе с тем хочется отметить, что при использовании классической методики фотодинамической терапии регенеративные процессы протекают чуть быстрее в первые 5—7 сут лечения, чем при применении фотоокситерапии с эффектами генерации синглетного кислорода в тканях. Однако неоспоримым преимуществом новой методики лечения является стойкость терапевтического эффекта и достижение устойчивой ремиссии за счет доказанного активного пролиферативного роста со-

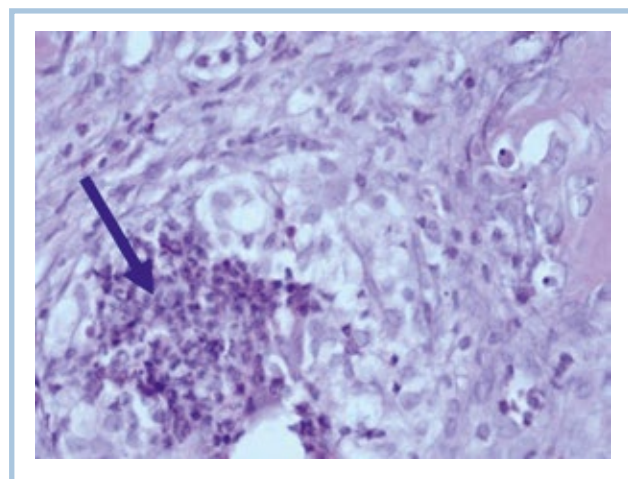


Рис. 8. Периодонтальная связка с разрастаниями грануляционной ткани с полнокровными сосудами, диффузной инфильтрацией лейкоцитами с примесью макрофагов, стрелкой указан микроабсцесс.

Ув. 200.

судов в тканях и реактивного воспаления на раннем этапе лечения. Перспективы применения новой методики синглетной окситерапии в клинической практике при лечении болезней пародонта очень высоки за счет существенного снижения стоимости лечения при исключении фотосенсибилизаторов и сокращения времени процедуры.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы в равной степени принимали участие в подготовке материала.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Беликов А.В., Скрипник А.В. *Лазерные биомедицинские технологии (часть 1): учебное пособие.* — СПб: СПбГУ ИТМО. — 2008. — С.116. [Belikov AV, Skripnik AV. *Lazernye biomeditsinskie tekhnologii (chast' 1): uchebnoe posobie.* SPb: SPbGU ITMO, 2008;116. (In Russ.)].
- Закиров Т.В. Современные представления о возможности использования лазера при лечении воспалительных заболеваний пародонта. *Проблемы стоматологии.* — 2012. — № 3. — С. 10—14. [Zakirov TV. Modern representations about possibility of using a laser in treatment of inflammatory periodontal diseases according to the literature analysis. *The actual problems in dentistry.* 2012;3:10-14. (In Russ.)].
- Крихели Н.И., Попова А.Е. Изменение микробиологических и биохимических показателей у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени после включения фотодинамической терапии в план комплексного лечения. // *Российская стоматология.* — 2013. — Т. 6. — № 4. — С. 4-11. [Krikheli NI, Popova AE. Changes of microbiological and biochemical characteristics of the patients presenting with moderately severe chronic generalized periodontitis following inclusion of photodynamic therapy in the combined treatment program. *Rossiiskaya stomatologiya.* 2013;6:4-11. (In Russ.)].
- Fikackova H, Navratil L, Navratilova B. Фототерапия в стоматологической практике. *Новое в стоматологии.* 2003;8:116:57-58. [Fikackova H, Navratil L, Navratilova B. Fototerapiya v stomatologicheskoi praktike. *Novoe v stomatologii.* 2003;8:116:57-58. (In Russ.)].
- Васильев Н.Е., Сысоева Г.М., Даниленко Е.Д. Иммунологические аспекты фотодинамической терапии. // *Медицинская иммунология.* — 2003. — Т. 5. — № 5-6. — С. 507-518. [Vasil'ev NE, Sysoeva GM, Danilenko ED. Immunological aspects of photodynamic therapy. *Meditsinskaya immunologiya.* 2003;5:5-6:507-518. (In Russ.)].
- Наумович С.А., Кувшинов А.В. Фотодинамическая терапия в лечении заболеваний пародонта (экспериментальное исследование). // *Медицинский журнал.* — 2007. — №1. — С. 71—75. Naumovich S.A., Kuvshinov A.V. Fotodinamicheskaya terapiya v lechenii zabolevaniy periodonta (eksperimental'noe issledovanie) // *Med zhurnal.* 2007;1:71-75. (In Russ.)].
- Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы. // *СТМ.* — 2012. — № 2. — С. 128-134. [Martusevich AA, Peretyagin SP, Martusevich AK. Molecular and Cell Mechanisms of Singlet Oxygen Effect on Biosystems. *Modern technology in medicine.* 2012;(2):128-134. (In Russ.)].
- Чунихин А.А., Базикян Э.А., Сырник 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. [Chunikhin A.A., Bazikyan E.A., Syrnikova N.V., Chobanyan A.G. Comparative evaluation of the efficiency of generation of singlet oxygen by a module of nanosecond laser incorporated into robotic surgical complex in biochemical environmental models // *Rossiiskaya stomatologiya.* 2017;10(2):30-35. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/rosstomat201710230-35>
- Krasnovsky AA, Roumbal YaV, Strizhakov AA. Rates of 1O_2 production upon direct laser excitation of molecular oxygen by 1270 nm laser radiation in air—saturated alcohols and micellar aqueous dispersions. *Chem Phys Lett.* 2008;458:195-199.
- Chunikhin AA, Bazikyan EA, Pikhtin NA. A laser unit for photodynamic therapy and robot-assisted microsurgery in dentistry. *Tech Phys Lett.* 2017;43(6):507-510. <https://doi.org/10.1134/S1063785017060074>