

Ю.Л. Денисова<sup>1</sup>, Т.Э. Владимирская<sup>2</sup>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКУУМ-ЛАЗЕРОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЯМИ ПЕРИОДОНТА В СОЧЕТАНИИ С ЗУБОЧЕЛЮСТНЫМИ АНОМАЛИЯМИ И ДЕФОРМАЦИЯМИ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»<sup>1</sup>  
ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»<sup>2</sup>

После воздействия вакуум-лазеротерапии установлена ранняя элиминация воспаления (через 1 час после прекращения воздействия) во всех компонентах десны и перифокальных структурах за счет vaporизации воспалительных клеток, активация сосудов (полнокровие, заметное нарастание их количества), а регенерация и полная эпителизация десневого кармана была завершена на 4-е сутки после прекращения воздействия вакуум-лазеротерапии.

**Ключевые слова:** вакуум-лазеротерапия, экспериментальный периодонтит, морфологические исследования животных.

*Y.L. Denisova, T.E. Vladimirskaia*

### EXPERIMENTAL PROOF OF VACUUM-LASER THERAPY IN THE COMPLEX TREATMENT OF PATIENTS WITH PERIODONTAL DISEASE IN COMBINATION WITH DENTOFACIAL ANOMALIES AND DEFORMATION

After exposure to the vacuum-laser therapy installed early elimination of inflammation (1 hour after cessation of treatment) in all components of the gums and perifocal structures through vaporization of inflammatory cells, activation of the blood vessels (hyperemia, marked increases in their number), and the regeneration and complete epithelialization of the gingival pocket was completed after 4 days after cessation of treatment vacuum laser therapy.

**Key words:** vacuum laser therapy, experimental periodontitis, morphological studies of animals.

Среди множества лечебно-профилактических мероприятий, используемых при лечении болезней периодонта, большое значение имеют физиотерапевтические процедуры. Они широко применяются на различных этапах диагностики, комплексной терапии, профилактики и реабилитации с целью воздействия на отдельные патогенетические звенья процесса, а также для симптоматического лечения [1].

Наряду с широким использованием различных физических факторов в стоматологии следует отдать предпочтение очаговому дозированному вакууму и лазеротерапии из-за их избирательного воздействия на микроциркуляторное звено и вегетативную нервную систему [2, 3].

Лазерный свет обладает выраженным противовоспалительным и противоотечным действием, нормализует микроциркуляцию, стимулирует метаболизм и регенерацию тканей, обладает гипосенсибилизирующим и анальгезирующим эффектом, бактерицидным и бактериостатическим действием [3].

Процедура лечебного низкоинтенсивного лазерного облучения вызывает рефлекторное выделение большого количества ротовой жидкости, которая является оптической средой поглощения лазерного излучения. Это создает трудности в получении «плотного контакта» лазерного излучения. Вместе с этим снижает эффективность внутриротовых процедур лазеротерапии, делая лечение более продолжительным [3].

После вакуумного воздействия в тканях наступают активные ферментативные процессы, которые ведут не только к рассасыванию гематомы, но и к аутолизу

белков поврежденных клеток, что стимулирует репаративные процессы в тканях периодонта. Вакуумное воздействие является стимулятором репаративной регенерации костной ткани при ортодонтическом лечении [2].

Сочетание очагового дозированного вакуума и света гелий-неонового лазера позволяет более глубоко проникновению лазерного излучения в тканях периодонта, а также получения анальгезирующего и противовоспалительного эффекта. Сочетанное использование низкоинтенсивного лазерного излучения и вакуума усиливает отдельно взятые факторы, что приводит к качественно новому физическому воздействию. Это ведет к потенцированию и удлинению положительного воздействия лазеротерапии и дозированного вакуума, что позволяет уменьшить длительность процедуры и период курса лечения.

**Цель исследования** – изучить характер морфологических изменений в тканях патологически измененного периодонта под влиянием вакуум-лазеротерапии в эксперименте на животных.

**Материал и методы.** Для решения поставленной цели использовали 83 рандомбредных белых крыс массой 60–70 г, которых разделили на 3 группы. Экспериментальная группа (42 белые крысы) состояла из лабораторных животных с экспериментальным периодонтитом, которым проводили физиотерапию с последующей патоморфологической оценкой биоптата непосредственно после воздействия вакуум-лазеротерапии, через 1 час, а также каждые сутки в период 2 – 8 дней после проведения лечебных процедур. При

этом определяли характер патоморфологических изменений в тканях патологически измененного периодонта под влиянием вакуум-лазеротерапии. В группе сравнения (36 белых крыс) находились лабораторные животные с экспериментальным периодонтитом, у которых не проводили физиотерапию. Изучали ткани периодонта у 5 лабораторных животных (контрольная группа), у которых определяли состояние здоровой десны с последующей патоморфологической оценкой биоптата здоровой десны.

До начала эксперимента животные находились под карантинным наблюдением в течение двух недель в виварии. Для эксперимента выбирали активных животных с гладким, блестящим шерстным покровом, нормальной окраской видимых слизистых оболочек, охотно поедающих корм. В день начала экспериментов проводили дополнительное обследование и взвешивание животных. Распределение по группам наблюдения проводилось в зависимости от пола и массы тела.

Условия содержания всех животных были одинаковыми: они находились на обычном рационе вивария в течение 45 – 52 дней. Известно, что у крыс в условиях «подавления рефлекса свободы», находящиеся на обычном рационе вивария, развивается периодонтит (спонтанный пародонтит), который может служить своеобразной моделью подобного заболевания у человека [5].

Все исследования проводились в соответствии с правилами по работе с экспериментальными животными [4]. Все манипуляции выполнялись с соблюдением принципов биоэтики на наркотизированных животных. Для введения в наркоз использовали смесь 1 мл 0,005% р-ра фентанила и 2 мл 0,25% р-ра дроперидола. После наркотизации животных фиксировали на спине на специальных станках для быстрого и стандартизированного выполнения манипуляций.

Проводили физическое воздействие на область десны, центральных резцов нижней челюсти животных с периодонтитом. В процессе выполнения работы использовали разработанное нами устройство и методику для вакуум-лазеротерапии, которые дали возможность осуществить сочетанное (одновременное) воздействие дозированного вакуума и лазерного излучения на ткани периодонта (приоритет. справка на патент Республики Беларусь №и20120716 от 25.07.2012). Система для лечения периодонтологических пациентов с зубочелюстными деформациями состоит из устройства для определения капиллярного давления в тканях периодонта, устройства для вакуум-лазеротерапии, блока управления и платформы для их фиксации. Устройство для вакуум-лазеротерапии содержит специальный вакуум-лазерный наконечник с диаметром 5-7 мм, в корпус которого вмонтирован световод, помещенный в кювету с градуированной шкалой. Кювета представляет собой полуку (стеклянную или хлорвиниловую) трубку с отводящим каналом штуцера, связывающим ее внутреннюю полость с вакуумпроводом и вакуумным аппаратом (АЛП-02),

на котором предусмотрен подрывной клапан. Для использования лазеротерапии применяли аппарат Лазурит 3М.

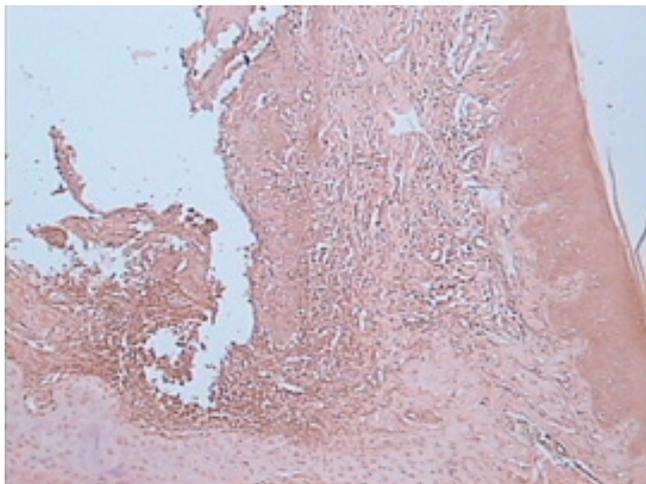
К десне в области переходной складки подводили стерильный наконечник и включали вакуумный аппарат. Настроенный наконечник вновь подводят к необходимому участку десны. Включали вакуумный аппарат, а затем лазерный аппарат. Ткани периодонта, в области перемещаемых зубов, подвергали воздействию гелий-неонового лазера при плотности потока мощности – 10-100 мВт/см<sup>2</sup> и очагового дозированного вакуума (20 - 40 мм рт. ст.). Время экспозиции было 0,5-1 мин на одну область, количество процедур – 3 (через каждые сутки).

По истечении срока наблюдения животных (опытной и группы сравнения) выводили из эксперимента путем мгновенной декапитации с соблюдением принципов биоэтики (в соответствии со стандартами GLP) на фоне внутривенного тиопенталового наркоза из расчета 1 мл 5% тиопентала натрия на 100 грамм веса животного. Забор материала для микроскопических исследований проводили непосредственно после воздействия вакуум-лазеротерапии, через 1 час, а также каждые сутки в период 2 - 8 дней после проведения лечебных процедур.

Морфологические исследования проводили на материале фрагмента отростка в области зубов нижней челюсти. Иссеченные участки комплекса «зуб – ткани периодонта» декальцинировали смесью соляной кислоты 5% и муравьиной кислоты 5%. Далее материал проводили через спирт-хлороформ, хлороформ, хлороформ-парафин и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4 - 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование микропрепаратов и изготовление их микрофотографий проводили с помощью микроскопа DMLS с программным обеспечением («Leica», Германия).

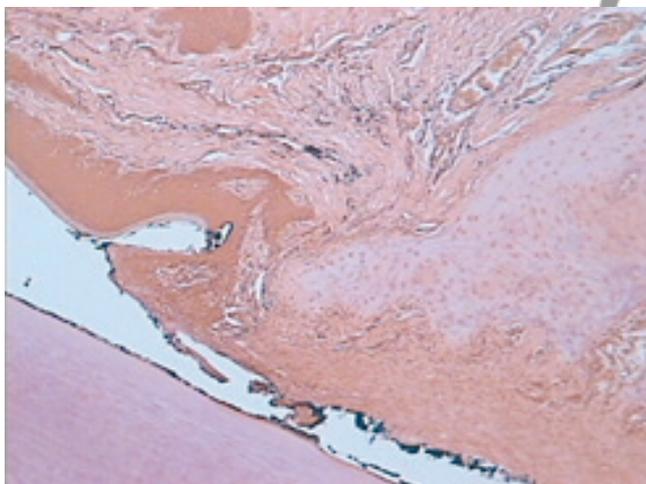
**Результаты и обсуждение.** Экспериментальная группа. Непосредственно после воздействия вакуум-лазеротерапии (I-Э подгруппа) прослеживается широкая десневая борозда и объемный десневой карман. В области последнего выявляется сгущение тонких соединительно-тканых волокон и слабо выраженная воспалительная инфильтрация, а также предкоагуляционные изменения сохранившихся клеток воспаления. В собственной пластинке (СП) десны определяется нивелирование отека, гомогенность и по большей части плотная упакованность коллагеновыми волокнами (КВ), малочисленность узких щелевидных лимфатических и «деформированных» кровеносных капилляров, без компонентов крови в просвете и десквамация эндотелиоцитов. Кроме того происходит нивелирование клеток воспаления – выявляются немногочисленные диффузно разбросанные по одиночке или в виде мелких очажков воспалительные клетки с предкоагуляционными изменениями в виде элиминацией цитоплазмы и «деформацией» ядер чаще

с пылевидным хроматином или с его маргинацией (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Морфологические признаки тканей периодонта у животных экспериментальной группы непосредственно после воздействия вакуум-лазеротерапии (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100)

Через 1 час (II-Э подгруппа) после воздействия вакуум-лазеротерапии сохраняется относительно глубокий десневой карман без эпителия, с элиминацией клеток воспаления (выпаривание) как в ткани десневого кармана, так и в СП десны, а также в периосте альвеолярного отростка (рисунок 2).



**Рисунок 2.** Морфологические признаки тканей периодонта у животных экспериментальной группы через 1 час после воздействия вакуум-лазеротерапии (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100)

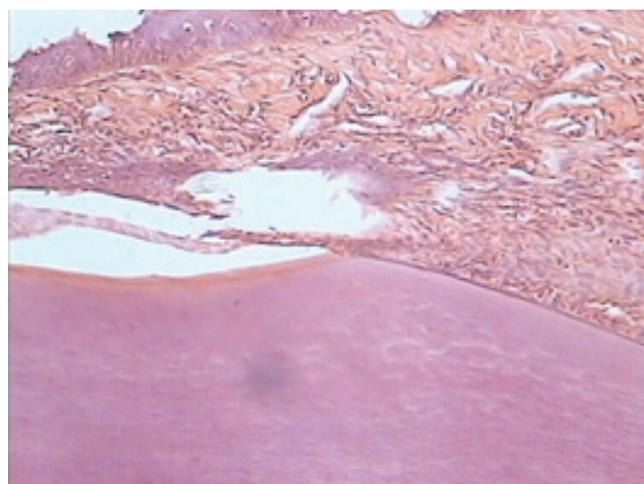
В СП десны отмечается плотная упакованность объемных КВ (т.е. элиминация отека – выпаривание). Выявлялись немногочисленные удлинено-щелевидные лимфатические капилляры и в дистальной части десны, по ходу периоста альвеолярного отростка челюсти – расширенные полнокровные венулы до 14-15 в поле зрения (при увеличении  $\times 100$  мкм) с периадвентици-

альным отеком, единичные капилляры и артериолы. Четко прослеживались слои эпителия десневой борозды и свободной части десны с узким роговым слоем и неравномерно расположенным, преимущественно широкими и низкими (как и в контрольной группе) эпителиальными гребешками.

На 2-е сутки (III-Э подгруппа) после воздействия вакуум-лазеротерапии определяется десневой карман с сегментарной эпителизацией. Отмечается элиминация клеток воспаления (выпаривание) как в ткани десневого кармана, так и в СП десны, в периосте альвеолярного отростка челюсти и периодонтальной связке. В СП десны была плотная упакованность КВ, единичные щелевидные лимфатические капилляры, обилие густо расположенных расширенных и полнокровных тонкостенных венул, единичные капилляры и артериолы. В эпителиальном пласте десневой борозды и свободной части десны прослеживаются клеточные слои, выявляется роговый слой и отмечается сглаженность базального слоя клеток.

На 3-е сутки (IV-Э подгруппа), 4-е сутки (V-Э подгруппа) и 5-е сутки (VI-Э подгруппа) микроскопические изменения десны были сходными с данными III-Э подгруппы через 2 суток после прекращения воздействия.

На 8-е сутки (VII-Э подгруппа) после воздействия вакуум-лазеротерапии микроскопические изменения десны данной группы крыс сходные с десной крыс VI-Э подгруппой и в основном не отличаются от десны интактных крыс контрольной группы. Отмечается полная элиминация клеток воспаления, плотная упаковка объемных КВ СП десны, малочисленность лимфатических и единичные кровеносные капилляры, полная эпителизация десневого кармана (рисунок 3).

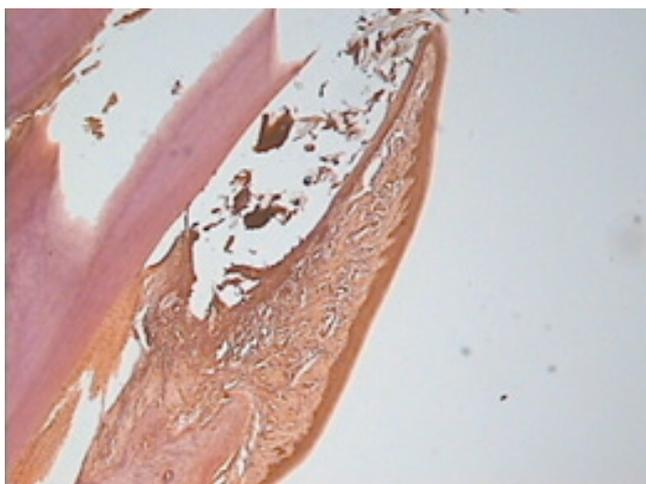


**Рисунок 3.** Морфологические признаки тканей периодонта у животных экспериментальной группы через 1 час после воздействия вакуум-лазеротерапии (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100)

Эпителиальный пласт свободной части десны не отличается от десны интактных крыс. В одном случае отмечается формирование по краю десневой борозды узкой полоски из тонковолокнистой бесклеточной

соединительной ткани. Прослеживается на всем протяжении узкий слой из удлинённых и уплотнённых эпителиальных клеток.

**Группа сравнения.** Непосредственно после прекращения действия стрессогенных факторов (I-C подгруппа), через 1 час в 1-е сутки (II-C подгруппа) у всех исследованных крыс микроскопические изменения десны были однотипными. В слизисто-надкостничном лоскуте животных отмечали изменения эпителия десневой борозды (неравномерная толщина с сегментарной элиминацией слоев, дистрофия и распад базальных клеток, малочисленные удлинённые клетки зернистого слоя с единичными пылевидными гранулами, трансформация его клеток в кератиноциты и формирование рогового слоя). Было установлено интенсивное гнойно-продуктивное воспаление с деструкцией и отслойкой эпителия прикрепления и, как следствие, заметное углубление десневой борозды и формирование десневого кармана, надкостничного микроабсцесса, скопление гноя и гнойного детрита в углубленной и расширенной десневой борозде, переход воспаления на собственную пластинку десны, периост альвеолярного отростка челюсти и периодонтальную связку (рисунок 4).



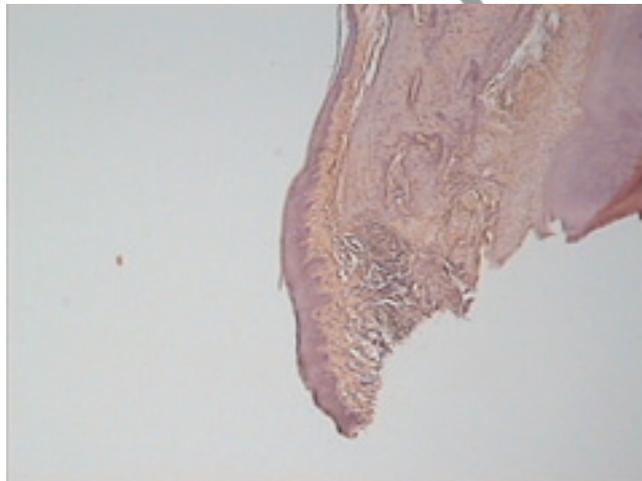
**Рисунок 4.** Морфологические признаки тканей периодонта у экспериментальных животных группы сравнения в 1-е сутки (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100)

В собственной пластинке свободного сегмента десны отмечали мелкие очаги продуктивного воспаления, обилие щелевидных лимфатических капилляров (оптически пустые), нефункционирующие малочисленные кровеносные капилляры (без компонентов крови в просвете), с утолщенной стенкой и дистрофией эндотелиоцитов. Десневой эпителий имел сглаженность сосочков базального слоя.

На 2-е сутки (III-C подгруппа) морфологические показатели соответствовали таковым I подгруппы.

На 3-е сутки (IV-C подгруппа) микроскопические изменения десны незначительно отличались от микро-

структуры десны крыс I подгруппы. Отмечалось незначительное снижение интенсивности гнойного воспаления десневого кармана, периоста альвеолярного отростка челюсти, а также продуктивного воспаления СП десны, а также гнездового скопления расширенных полнокровных капилляров и венул (рисунок 5).



**Рисунок 5.** Морфологические признаки тканей периодонта у экспериментальных животных группы сравнения на 3-е сутки (окраска гематоксилином и эозином, ув. 100)

На 4-е сутки (V-C подгруппа) после прекращения воздействия сохраняется широкая и глубокая десневая борозда и десневой карман. Отмечается удлинение эпителиальных гребешков проксимальной части десневой борозды, сформированная поверхностная эрозия в эпителии дистальной части, заполненная некротическим детритом и гнойным экссудатом, а также деструкция поверхностных слоев прикрепленного эпителия с диффузным гнойно-продуктивным воспалением, резким папилломатозом глубокого слоя эпителия данной части десны и формирование перифокально узловатых структур из зрелой грануляционной ткани (аномальная регенерация и эпителизация). У экспериментальных животных выявлены умеренно выраженное серозно-гнойное воспаление СП десны, периодонтальной связки и периоста, выраженные реактивные изменения последнего с формированием объемных узловатых структур фиброматозного строения; очаговая слабая активация (воспалительного генеза) функционирующих сосудов.

На 5-е сутки (VI-C подгруппа) сохраняется глубокая и широкая десневая борозда, деструкция эпителия прикрепления. Прослеживается распространенное умеренно, слабо очаговое выраженное серозно-продуктивное воспаление СП десны, периодонтальной связки и надкостницы альвеолярного отростка челюсти и интенсивная гиперплазия фибробластов. В области дна периодонтального кармана выявляются мелкие очаги пролиферации многослойного плоского эпителия (МПЭ) с погружным ростом в периодонталь-

ную связку и периост (аномальная регенерация), а также очаги нарастания количества функционирующих (полнокровных) капилляров до 15-17 в поле зрения при увеличении  $\times 200$  мкм (очаги грануляционной ткани). Отмечается также дисконфлексация МПЭ свободной части десны – усиление кератоза и формирование мелких узелков паракератоза, удлинение и уширение эпителиальных гребешков с погружным ростом.

На 8-е сутки (VII-C подгруппа) отмечается глубокая десневая борозда с неоднородным десневым эпителием – по большей части он истончен с сегментарной деструктуризацией поверхностных слоев. В средне-концевой части его отмечается выраженное удлинение эпителиальных гребешков с нарушением их ориентации и погружным ростом в СП десны. В дистальной части прослеживается начинающаяся очаговая регенерация эпителия с неупорядоченным расположением клеток; и у дна борозды сохраняется распад клеток эпителиального пласта с обнажением СП десны (изъязвление) и очаговым разрастанием в данном участке зреющей грануляционной ткани с признаками серозного воспаления (рисунок 6).

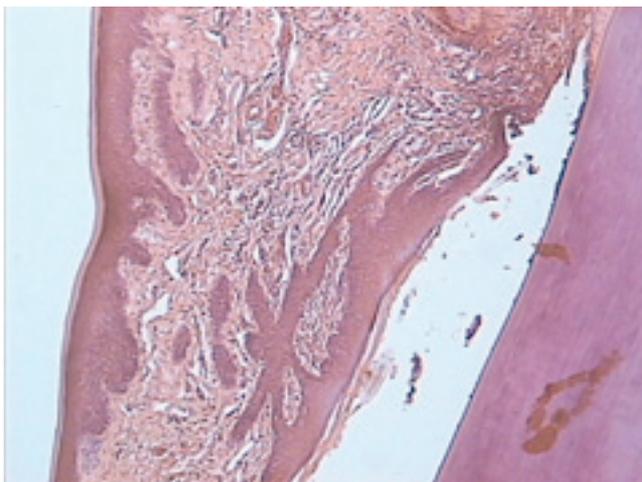


Рисунок 6. Морфологические признаки тканей периодонта у экспериментальных животных группы сравнения на 8-е сутки (окраска гематоксилином и эозином, ув. 200)

Выявляются относительно объемные очаги аналогичной грануляционной ткани в толще периодонтальной связки на фоне резко выраженной гиперплазии клеточного компонента последней. В верхушечном сегменте свободной части десны – дистрофия и распад МПЭ (поверхностная эрозия) с мелким очагом лимфоцитов и с признаками начинающейся эпителизации. Отмечается слабо выраженный отек СП десны, очаги расширенных и сливающихся оптически пустых и тонкостенных лимфатических сосудов, диффузно разбросанные сдавленные мелкие и слабо полнокровные капилляры (до 10-15 в поле зрения при увеличении  $\times 200$  мкм), мелкие очаги периваскулярной пенетрации лимфоцитами; гнезда эктазированных и полнокровных

венул в зоне дна десневой борозды.

**Контрольная группа.** Морфологические исследования показали, что состояние тканей периодонта было в пределах нормы в сроках наблюдения соответствующих эксперименту.

Таким образом, установлены особенности микроскопических изменений десны и их динамики, заметно отличающиеся от микроструктуры десны крыс, как от группы сравнения, так и от экспериментальной группы:

1. Непосредственно после воздействия вакуум-лазеротерапии сохранялась глубокая десневая борозда и широкий десневой канал. Отмечена выраженная элиминация (выпаривание) клеток воспалительного инфильтрата, предкоагуляционные изменения немногочисленных сохранившихся, сгущение по краю десневой борозды тонковолокнистой соединительной тканью, нивелирование отека собственной пластинки десны, плотная упакованность объемных коллагеновых волокон, констрикция лимфатических и спазм кровеносных капилляров.

2. Через час после воздействия вакуум-лазеротерапии установлена полная элиминация (выпаривание) клеток воспаления как в собственной пластинке десны, дне десневого кармана, так и в перифокальных отделах, включая периост альвеолярного отростка челюсти и проксимальный сегмент периодонтальной связки; а также прослеживалась заметная активация сосудов, преимущественно венул и в меньшей степени капилляров и артериол.

3. Сегментарная регенерация и эпителизация десневого кармана наблюдалась через 1–2 суток после прекращения воздействия вакуум-лазеротерапии и полная к 4-м суткам. Кроме того сохранялась в этот и последующие сроки высокая активация, полнокровие и эктазия венозных сосудов.

Таким образом, после воздействия вакуум-лазеротерапии установлена ранняя элиминация воспаления (через 1 час после прекращения воздействия) во всех компонентах десны и перифокальных структурах за счет вапоризации воспалительных клеток, активация сосудов (полнокровие, заметное нарастание их количества), а регенерация и полная эпителизация десневого кармана была завершена на 4-е сутки после воздействия вакуум-лазеротерапии.

### Литература

1. Дедова, Л.Н. Диагностика болезней периодонта: Учебно-метод. пособие / Белор. госуд. мед. унив.; Сост. Л.Н. Дедова – Минск, 2004. – 70с.
2. Кулаженко, В.И. Двадцатилетний опыт вакуумной и электровакуумной диагностики и лечения больных пародонтозом // VI Всесоюз. съезд стоматологов: Сб. докл. – Л., 1975. – С.70.
3. Лазерная терапия заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта / А.А. Прохончуков [и др.] // Стоматология. – 1996. – № 3. – С. 55–62.
4. Обезболивание животных в эксперименте: Методические рекомендации. – М., 1985. – 54 с.
5. Шенберг, М.Г. Строение пародонта некоторых лабораторных животных // Проблемы терапевтической стоматологии. – Киев, 1967. – Вып.2. – С. 91-98.

Поступила 29.11.2012 г.