

**Морфофункциональное состояние кожи и слизистой оболочки нижней челюсти кролика после воздействия ультразвуком низкой частоты**

*БГМУ, институт физиологии НАН РБ, БГУ*

Приведены данные о состоянии кожи и слизистой оболочки челюсти кролика после воздействия низкочастотным ультразвуком

Ключевые слова: низкочастотный ультразвук, кожа, слизистая оболочка

S.V. Ivashenko, T.E. Kuznetsova, G.A. Berlov, H.S. Ivashenko

The morphofunctional state of skin and mucous membrane of the lower jaw of rabbit after exposure to low-frequency ultrasound

The data on the Condition of the skin and mucous membrane of the rabbit mandible after exposure to low-frequency ultrasound

Key words: low-frequency ultrasound, skin, mucous membrane

Низкочастотный ультразвук обладает многообразными лечебными свойствами, связанными с его антибактериальным, анальгизирующим, противовоспалительным, противоаллергическим, спазмолитическим, болеутоляющим, гипотензивным, общетонизирующим, рассасывающим и нормализующим действием.

В различных областях медицины все более значительное место занимает использование низкочастотного ультразвука с целью консервативного и хирургического воздействия на ткани. Ультразвуковая терапия – одна из наиболее распространённых и эффективных физиотерапевтических процедур. Она с успехом используется в самых различных областях медицины: стоматологии, неврологии, ортопедии, дерматологии, терапии и др. В последние годы в лечебную практику стал активно внедряться низкочастотный ультразвук (от 16 до 200кГц), отличающийся более высокой биологической активностью и простотой применения. Согласно имеющимся данным, по сравнению с высокочастотным, низкочастотный ультразвук более глубоко проникает в ткани, обладает более выраженным бактерицидным, противоотёчным, разрыхляющими деполимеризующим действием, сильнее изменяет сосудистую и эпителиальную проницаемость, проявляет большую фибролитическую активность, способен оказывать выраженный противовоспалительный эффект [11]. Наиболее широко и успешно низкочастотный ультразвук используется в гнойной хирургии [1,7], при лечении трофических язв [3], при хронических воспалительных процессах в гинекологии, урологии и пульмонологии, при деструктивном туберкулёзе [9] и ряде других заболеваний [2]. Всё это указывает на целесообразность и перспективность использования низкочастотного ультразвука в медицинской практике. Многие исследователи полагают, что безвредность, малая травматичность, простота ультразвукового воздействия даёт возможность его использования в стоматологии, при заболеваниях и травмах суставов и периферической нервной системы, многих кожных и эндокринных заболеваниях, в оториноларингологии и других областях медицины [4,6,8,10].

Оптимальная интенсивность низкочастотного ультразвука составляет 0,6 Вт/см<sup>2</sup> [5] .

Tanzer M и соавт. [17] в эксперименте показали, что ультразвук низкой интенсивности усиливает рост костной ткани в пористых внутримедуллярных имплантах, что указывает на возможность его использования с целью усиления биологической фиксации.

Maug E и соавт. [15] применяли пульсирующий ультразвук низкой интенсивности для лечения пациентов с ладьевидными переломами. Это ускорило время заживления примерно на 30%.

Harle J. и соавт. [13] на основании данных экспериментальных исследований установили, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность соединительных клеток, который может заметно влиять на восстановление тканей и процессы регенерации в естественных условиях.

Korstjens С.М. и др. [14] при исследовании воздействия низкочастотного ультразвука мощностью 30 мВт/см<sup>2</sup> на остеогенез выявили стимулирующий эффект на эндохрящевое окостенение, который вероятно объясняется стимуляцией деления костных клеток и выработкой кальцифицированной матрицы.

Другое направление, где использование низкочастотного ультразвука может раскрыть новые возможности физиотерапевтических методов, связано с ультрафонофорезом.

Так В.М.Мельникова и И.С.Шепелева в эксперименте установили, что при применении низкочастотного ультразвука с частотой  $26,5 \pm 7,5$  кГц. глубина проникновения тетрациклина в бедренную кость для кортикального слоя составляет 300–800 микрон, губчатого вещества – до 5 см.

Л. М. Демнер [12] предложил использовать ультрафонофорез с 10% хлоридом кальция в непрерывном режиме с интенсивностью 0,2 – 0,4 Вт/ см<sup>2</sup> в сочетании с дозированным вакуумом для лечения пародонтоза.

Tezel A. и соавт. [19] доказали увеличение проницаемости кожи, облегчая таким образом, проникновение в нее макромолекул при низкочастотном сонофорезе. Низкие частоты (~ 20 кГц) вызывают ограниченное прохождение по сравнению с рассеянным эффектом, отмечаемом на более высоких частотах (~ 58,9 кГц). Проведенные исследования предоставляют количественное понимание воздействия ультразвука низкой частоты на проницаемость кожи.

Terahara T., Mitragotri C., Kost J., Langer R. [18] изучили зависимость низкочастотного сонофореза от различных параметров ультразвука, включая расстояние трубки до кожи, интенсивность и частоту. В эксперименте на живом образце кожи свиньи было установлено, что повышение проводимости кожи обратно пропорционально расстоянию излучателя до кожи. По мере увеличения интенсивности происходило повышение проводимости кожи до определенного порога, а затем она понижалась. Интенсивность, при которой происходит максимальное повышение, приблизительно составляет 14 Вт/ см<sup>2</sup> для 20 кГц и 17 Вт/ см<sup>2</sup> для 40 кГц. Эти результаты подтверждают роль кавитаций в низкочастотном сонофорезе.

Sundoram J. с соавт. [16] показали, что применение низкочастотного ультразвука позволяет кратковременно усилить проницаемость клеточных мембран. Этот принцип лежит в основе неразрушающего, нехимического и невирусного метода введения лекарственных веществ в клетку.

В 2004 г. Mitragotri C. и Kost J. [18] установили, что применение ультразвука увеличивает проницаемость кожи для различных молекул. Улучшение проницаемости, вызванное ультразвуком особенно существенно при низких частотах до 100 кГц.

Целью проведенного экспериментального исследования явилась оценка морфофункционального состояния кожи и слизистой оболочки нижней челюсти у кроликов после воздействия низкочастотным ультразвуком.

Материал и методы исследования

Эксперимент проведен на 8 кроликах породы шиншилла одинакового веса и возраста. Кроликов разделили на две группы. Контрольную – 3 особи и опытную – 5 особей. В опытной группе проводили озвучивание кожи и слизистой альвеолярного отростка нижней

челюсти в области центральных резцов ультразвуком частотой 60 кГц, интенсивностью 0,6 Вт/ см<sup>2</sup> до десяти минут по 10 процедур. Животные находились на стандартном рационе вивария.

После окончания опыта для гистологического исследования брали фрагмент нижней губы и слизистой оболочки нижней челюсти, фиксировали в 10%-ном растворе формалина, заливали в целоидин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Ван-Гизона. Гистоструктуру кожи изучали также на криостатных срезах толщиной 15 мкм после окраски гематоксилин – эозином. Для анализа функционального состояния структурных элементов кожи использовали показатель анаэробного окисления глюкозы – ЛДГ и окисления глюкозы в цикле Кребса – СДГ по методике Лойда.

#### Результаты и обсуждение

При морфологическом исследовании контрольных образцов кожи кролика установлено: тонкая кожа без чётких патологических изменений, нет дистрофических, некротических поражений клеток эпидермиса, признаков расстройства кровообращения – гиперемий, кровоизлияний, стаза, тромбоза и др. (рис. 1). На гистологических препаратах кожи контрольных кроликов видно, что эпидермис кожи кролика нижней челюсти представлен многослойным плоским ороговевающим эпителием. Эпидермис включает базальный, шиповатый, зернистый, блестящий и роговой слои. На отдельных участках эпидермиса отмечаются различные по величине и толщине отслаивающиеся поверхностные пласты эпителиальных чешуек. С возрастом интенсивность отслаивания роговых чешуек возрастает.

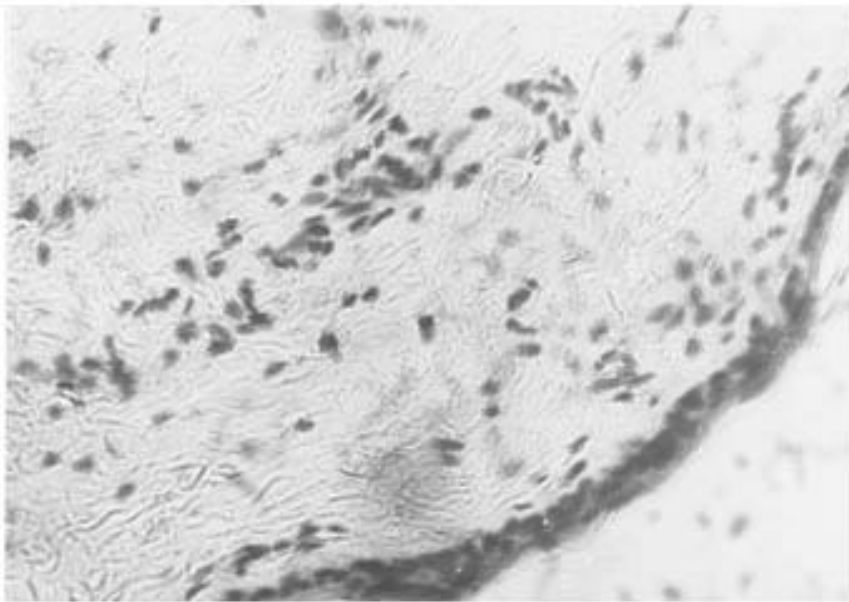


Рис. 1. Интактная кожа кролика. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.200

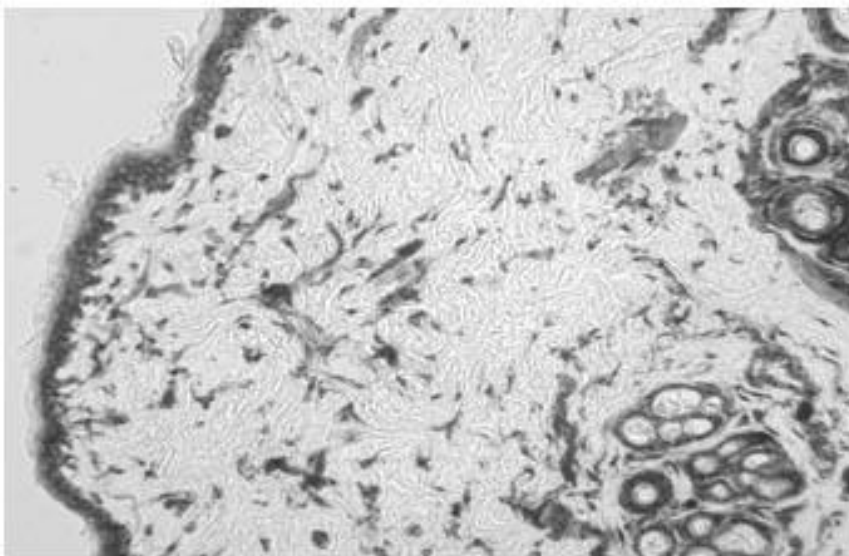


Рис. 2. ЛДГ в коже нижней челюсти интактного кролика. Ув. x 10

Собственно кожа (дерма) дифференцирована на сосочковый и сетчатый слои.

Сосочковый слой состоит из тонких коллагеновых и эластических волокон, содержит волосяные фолликулы, сальные и потовые железы. В дерме кожи эластических волокон значительно меньше, чем коллагеновых, и располагаются они неравномерно. Среди клеточных элементов встречаются тканевые базофилы, расположенные возле кровеносных сосудов и волосяных фолликулов. Коллагеновые волокна плотно оплетают сальные и потовые железы. Вокруг волосяных фолликулов они образуют соединительнотканное дермальное влагалище – капсулу.

Сетчатый слой дермы состоит из более толстых пучков коллагеновых волокон, которые, в отличие от сосочкового слоя, на разных участках кожного покрова имеют различное направление. Коллагеновые пучки пересекаются под разными углами друг к

другу и образуют замкнутые крупные и мелкие петли. Между волокнистыми структурами расположены скопления жировых клеток, кровеносные сосуды и пучки миоцитов. Эластических волокон здесь мало.

Волосы представлены тремя категориями – остевыми, промежуточными и пуховыми, собранными в пучки, в которых насчитывается до 8 волос. В пучке один острый волос, один промежуточный и до 5–6 пуховых волос. Острый волос располагается впереди остальных волос, предохраняя другие более мелкие волосы от механических воздействий. Наиболее часто встречаются пучки из четырех волос.

Волосная сумка образована двумя слоями соединительной ткани. Внутренний слой имеет циркулярную ориентацию коллагеновых волокон, а наружный – продольную. Кроме них имеется густая сеть, оплетающих фолликул, эластических волокон.

Эпидермис в области волосяных воронок гораздо толще и достигает шести-восьми слоев клеток, ороговение поверхностных слоев клеток выражено значительно сильнее. Клетки наружного корневого влагалища в подэпидермальной зоне уплощенные. В промежуточной зоне, ниже устья сальных желез, по мере приближения к шейке луковицы эпителиоциты изменяют свою форму от низкостолбчатой до высокостолбчатой. Клетки наружного корневого влагалища имеют светлую цитоплазму, крупные ядра, расположенные в апикальной части. Эпителиоциты внутреннего корневого влагалища формируются наружными слоями клеток луковицы волоса.

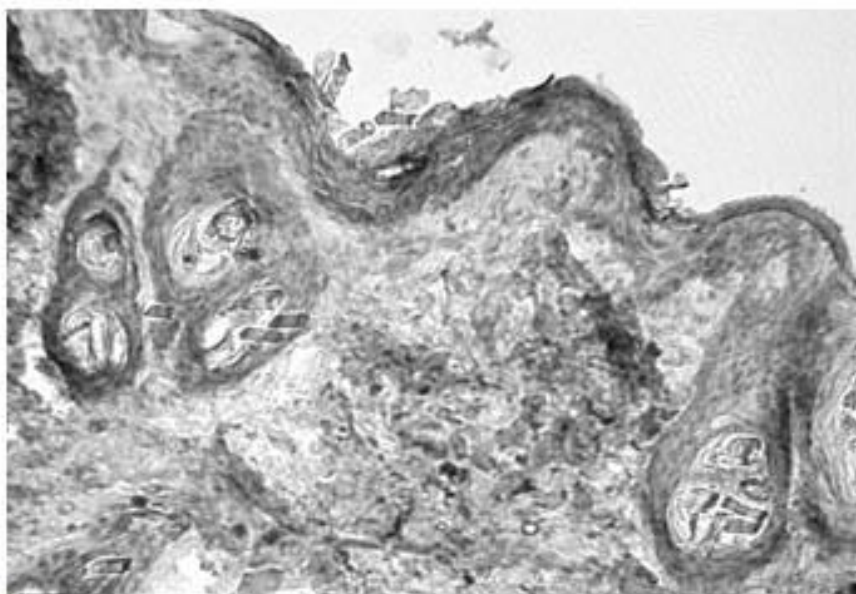
При исследовании гистохимических препаратов кожи контрольных животных обнаружена гетерогенность активности фермента ЛДГ в различных слоях кожи (рис. 2). Крупные и компактные гранулы осадка диформаза интенсивно-синего цвета заполняют всю цитоплазму клеток базального слоя. В клетках шиповатого слоя гранулы диформаза равномерно распределены по всей цитоплазме. Ядра клеток базального и шиповатого слоев светлые, энзим-негативные.

Цитоплазма практически всех клеточных компонентов рыхлой волокнистой ткани сосочкового и сетчатого слоев равномерно заполнена гранулами диформаза. Определяются крупные темно-синие гранулы диформаза в цитоплазме фиброцитов, в стенках артерий мышечного типа и коллагеновых волокнах дермы.

Предварительное исследование гистологических препаратов кожи нижней челюсти кроликов опытной группы показало изменения в структуре органа (рис. 3). Отмечено неравномерное утолщение эпидермиса, особенно вблизи устьев волосяных фолликулов за счет утолщения шиповатого слоя.



А



Б

Рис. 3. Изменения в коже нижней челюсти кролика после 10 процедур воздействия ультразвуком частотой 60 кГц. А – контроль, Б – опыт. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х 10



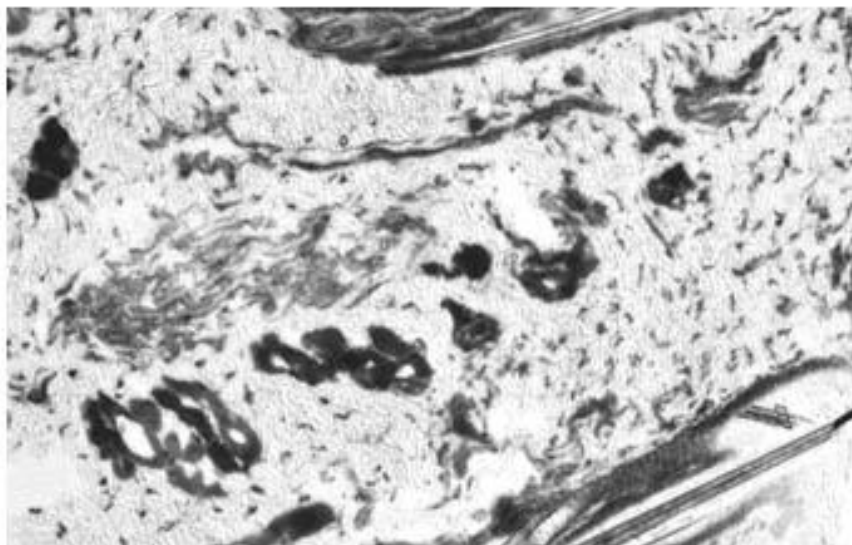
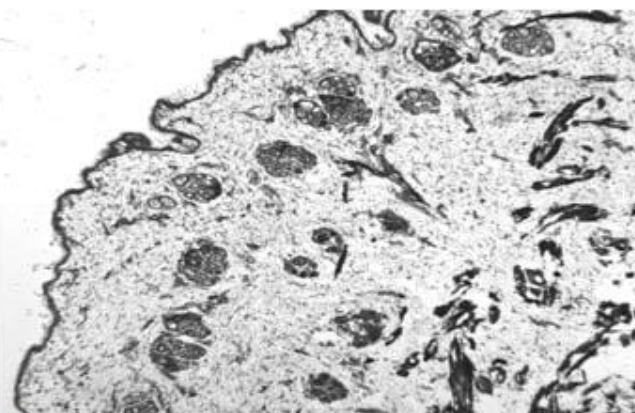
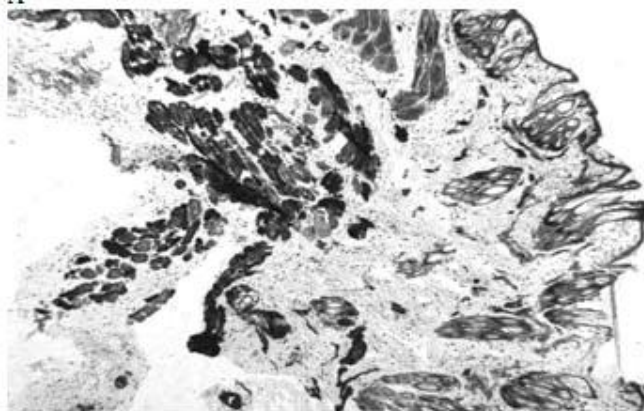


Рис.4. Разрыхление коллагеновых волокон в коже нижней челюсти кролика после 10 процедур ультразвука частотой 60 кГц. Метод: ЛДГ. Ув. х 6,3

В дерме определялись участки с разрыхлением коллагеновых волокон (рис. 4), очаговая пролиферация фибробластов, особенно в субэпидермальных отделах и вокруг волосяных фолликулов. На отдельных участках в некоторых случаях наблюдалось увеличение количества волосяных фолликулов (кустистость). Характерно, что волосяные пучки располагаются ближе к эпидермису (рис. 5). В коже после воздействия ультразвуком можно отличить незначительные круглоклеточные межучточные инфильтраты в дерме (рис. 6).



А



Б

Рис. 5. Увеличение количества волосяных пучков после 10 процедур ультразвука (60 кГц) в коже нижней челюсти кролика. А – контроль, Б – опыт. Метод: ЛДГ. Ув. х 2,5



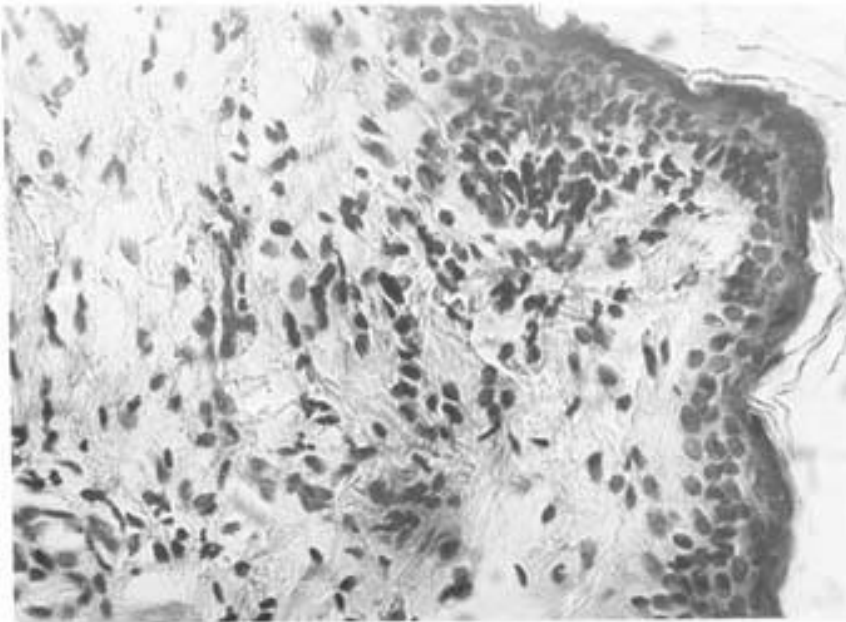


Рис. 6. Кожа после воздействия ультразвуком: слабо выраженные межклеточные круглоклеточные инфильтраты в дерме. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.200

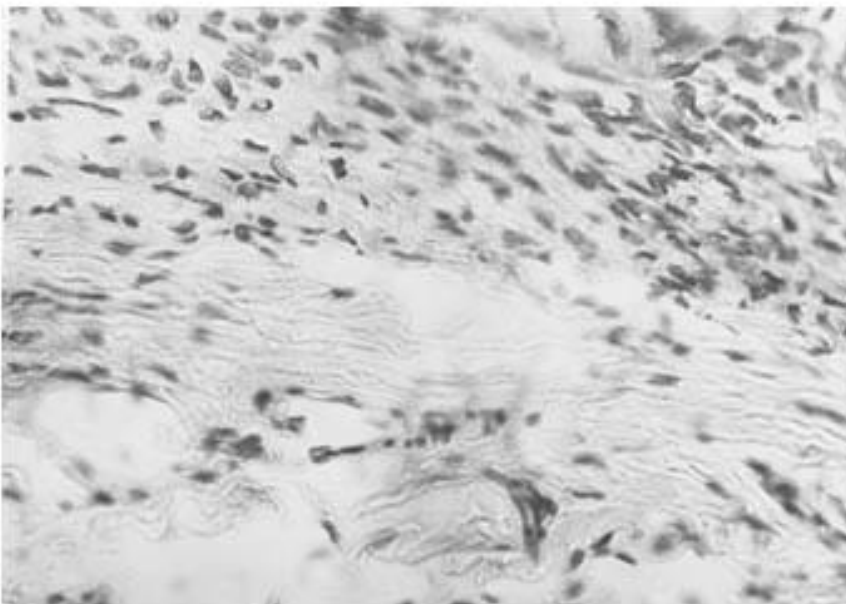


Рис. 7. Слизистая после воздействия ультразвуком – некоторое утолщение базального слоя в сравнении с интактной слизистой (сравнение с рис. 8). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.200

Одним из специфических свойств ультразвука является «разволокняющее» действие, которое способствует менее грубому рубцеванию и приводит, в известной мере, к рассасыванию (размягчению) уже сформировавшейся рубцовой ткани, вследствие расщепления пучков коллагеновых волокон на отдельные фибриллы.

Также на гистохимических препаратах можно отметить заметное увеличение активности ЛДГ в структурных элементах гиподермы.

При гистологическом исследовании образцов слизистой оболочки кроликов опытной группы выявлена десквамация редких поверхностных клеток плоского неороговевающего эпителия, слабо выраженная вакуолизация некоторых из них, несколько усиленная пролиферация клеток базального слоя (рис. 7) по сравнению с контролем (рис. 8).

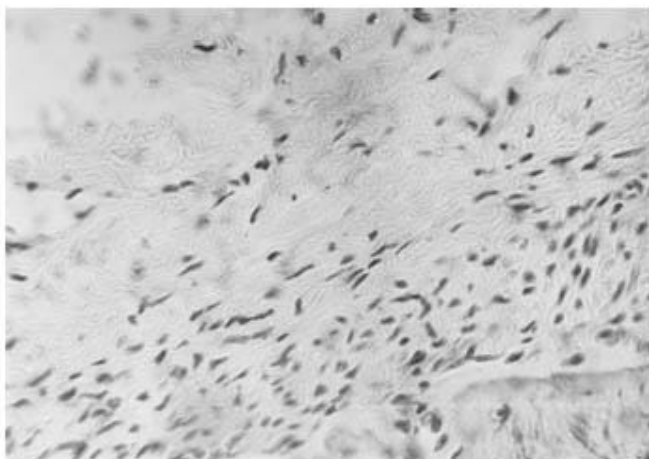


Рис. 8. Слизистая оболочка кролика без воздействия ультразвуком. Тонкий базальный слой (сравнение с рис. 7). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.200

Таким образом, нами показано, что воздействие 10 процедур ультразвука низкой частоты в коже нижней челюсти кролика вызывает утолщение эпидермиса, очаговое разрыхление коллагеновых волокон и увеличение количества волосяных фолликулов в дерме. Также при визуальном осмотре гистохимических препаратов отмечено повышение активности ЛДГ – фермента, характеризующего анаэробное окисление глюкозы.

#### Выводы:

1. Применение низкочастотного ультразвука (60 кГц) не оказывает влияния на жизнеспособность кожи и слизистой оболочки и не вызывает в них никаких патологических изменений.
2. После воздействия ультразвуком низкой частоты отмечается разрыхление коллагеновых волокон в коже нижней челюсти кролика.
3. Влияние низкочастотного ультразвука на слизистую оболочку сказывается в усилении пролиферации клеток базального слоя, десквамации и вакуолизации клеток плоского неороговевающего эпителия.

#### Литература

1. Дубров, Э. Я., Яшина, Т. Н. // Ортопедия и травматология. 1978. № 11. С. 80–82.
2. Ерохина, Г. А. // Рос. мед. журнал. 1996. № 4. С. 45–48.
3. Иванов, В. В. // Хирургия. 1986. № 5. С. 121–125.
4. Ивашенко, С. В. Экспериментальное обоснование применения фонофореза глюконата кальция с витамином Д в ретенционном периоде ортодонтического лечения / С. В. Ивашенко, В. С. Улащик, Г. А. Берлов // Современная стоматология. 2005. № 1. С. 64–66.
5. Котляров, В. С. Экспериментально-морфологическое исследование сравнительного действия ультразвуков разной частоты на уровне гистофизиологической микросистемы: автореф. дис. на соиск. учён. степ. д-ра мед. наук / В. С. Котляров. Киев, 1990. 36 с.
6. Летучих, А. А. [и др.] // Акушерство и гинекология. 1982. № 4. С. 41–43.

7. Либерзон, Р. Д. Обработка ран низкочастотным ультразвуком в профилактике и лечении гнойных осложнений у травматологических больных: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Р. Д. Либерзон. М., 1992.

8. Плаксин, И. Т. [и др.] // Хирургия. 1979. № 11. С. 19–23.

9. Самосюк, И. З., Мясников, В. Г., Клименко, И. В. // Вопр. курортологии, физиотерапии и леч. физкультуры. 1999. № 2. С. 9–11.

10. Степаненко, В. И. // Вестник дерматол. 1990. № 9. С. 51–54.

11. Улащик, В. С. // Вопр. курортологии, физиотерапии и леч. физкультуры. 2000. № 6. С. 3–8.

12. Ультрафонофорез раствором хлорида кальция в ортодонтии: метод. рекомендации / сост. Л. М. Демнер, Т. И. Коваленко. Казань, 1988.

13. Harle J; Salih V; Mayia F; Knowles JC; Olsen I Ultrasound Med Biol 2001 Apr;27(4): P. 579–86.

14. Korstjens CM; Nolte PA; Burger EH; Albers GH; Semeins CM; Aartman IH; Goei SW; Klein-Nulend J Orthop Res 2004 May;22(3): P. 495–500.

15. Mayr E; Rudzki MM; Rudzki M; Borchardt B; Hausser H; Ruter A- Handchir Mikrochir Plast Chir 2000 Mar;32(2): P. 115–22.

16. Sundaram J; Mellein BR; Mitragotri S Biophys J 2003 May;84(5): P. 3087–101.

17. Tanzer M; Kantor S; Bobyn JD J Orthop Res 2001 Mar;19(2): P. 195–9.

18. Terahara T; Mitragotri S; Kost J; Langer R- Int J Pharm 2002 Mar 20;235(1–2): P. 35–42.

19. Tezel A; Sens A; Tuchscherer J; Mitragotri S Pharm Res 2001 Dec;18(12): P. 1694–700