

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЗЕРНИЦКАЯ

Екатерина Александровна

**ЛАЗЕРНАЯ БИОМОДИФИКАЦИЯ ТВЕРДЫХ И МЯГКИХ ТКАНЕЙ
В ПЕРИИМПЛАНТНОЙ ЗОНЕ И ПОВЕРХНОСТИ ИМПЛАНТАТА**

14.01.14 – Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Яременко Андрей Ильич

доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Факторы, влияющие на долгосрочный результат имплантологического лечения	15
1.2 Методики регенерации костной ткани в зоне планируемой имплантации	20
1.3 Методики регенерации мягких тканей в зоне имплантации	22
1.4 Опыт применения диодных лазеров для регенерации твердых и мягких тканей полости рта	29
1.5 Лазерное структурирование поверхности дентального имплантата.....	38
Глава 2 ЛАЗЕРНАЯ БИОМОДИФИКАЦИЯ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ.....	45
2.1 Материал и методы исследования	45
2.1.1 Выбор диодных лазеров для воздействия на костную ткань лабораторных животных (980 нм и 1550 нм).....	45
2.1.2. Методика оперативного вмешательства.....	49
2.2 Результаты рентгенологического исследования.....	57
2.3 Результаты гистологического исследования	58
2.3.1 Гистологическое исследование костной ткани при воздействии лазера с длиной волны 980 нм	59
2.3.1.1 Оценка гистологической структуры костной ткани теменной кости кроликов в зоне с сохраненной надкостницей (зона 1).....	59
2.3.1.2 Оценка гистологической структуры костной ткани теменной кости кроликов в зоне с отслоением надкостницы (зона 2).....	63

2.3.2 Гистологическое исследование костной ткани	
при воздействии лазера с длиной волны 1550 нм	66
2.3.2.1 Оценка гистологической структуры костной ткани	
теменной кости кроликов в зоне	
с сохраненной надкостницей (зона 1).....	66
2.3.2.2 Оценка гистологической структуры костной ткани	
теменной кости кроликов в зоне	
с отслоением надкостницы (зона 2).....	68
2.3.2.3 Оценка гистологической структуры костной ткани	
теменной кости кроликов в зоне	
с созданием дефектов (зона 3).....	70
2.4 Методы статистической обработки результатов	72
2.5 Результаты гистоморфометрического анализа	73
2.5.1 Результаты гистоморфометрического исследования костной	
ткани животных группы 1 (воздействие лазера с длиной волны	
980 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей).....	75
2.5.2 Результаты гистоморфометрического исследования костной	
ткани животных группы 2 (воздействие лазера с длиной волны	
980 нм на костную ткань с отслоением надкостницы)	77
2.5.3 Результаты гистоморфометрического исследования костной	
ткани животных группы 3 (воздействие лазера с длиной волны	
1550 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей).....	77
2.5.4 Результаты гистоморфометрического исследования костной	
ткани животных группы 4 (воздействие лазера с длиной волны	
1550 нм на костную ткань с отслоением надкостницы)	80
2.5.5 Сравнительный анализ гистоморфометрических характеристик	
животных 1 и 3 группы	80
2.5.6 Сравнительный анализ гистоморфометрических характеристик	
животных 2 и 4 группы	82
2.6 Обсуждение	82

Глава 3 ЛАЗЕРНАЯ БИОМОДИФИКАЦИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ.....	87
3.1 Материал и методы исследования	87
3.1.1 Общая характеристика пациентов.....	87
3.1.2 Методика фракционной лазерной микрокоагуляции.....	90
3.1.3 Методика оценки эффективности и безопасности методики фракционной лазерной микрокоагуляции.....	92
3.2 Методика фракционной лазерной микрокоагуляции в зоне дентальных имплантатов	96
3.3 Методы статистической обработки данных.....	99
3.4 Результаты исследования на мягких тканях в зоне имплантации	100
3.4.1 Анализ ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования.....	100
3.4.2 Анализ изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования.....	101
3.4.3 Анализ изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с исходной шириной до проведения лазерной терапии.....	103
3.4.4 Анализа изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с «нормой» ширины	104
3.4.6 Сравнительный анализ изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования.....	108
3.4.7 Сравнительный анализ изменений ширины прикрепленной десны на различных этапах исследования с этапом исходной оценки (до проведения лазерной терапии)	112
3.4.8 Анализ болевой чувствительности во время процедуры фракционной лазерной микрокоагуляции.....	115
3.4.9 Анализ целесообразности проведения установки формирователей десневой манжетки без дополнительной мягкотканой аугментации	116

3.5 Клинические примеры.....	117
3.6 Обсуждение	129
Глава 4 ЛАЗЕРНОЕ СТРУКТУРИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ	
ДЕНТАЛЬНЫХ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ	133
4.1 Материал и методы исследования	133
4.2 Методика оперативного вмешательства.....	138
4.3 Подготовка препаратов не декальцинированной костной ткани.....	144
4.4 Результаты in vitro исследования	147
4.5 Результаты in vivo исследования.....	153
4.6 Обсуждение	159
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	163
ВЫВОДЫ	165
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	166
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	167

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Биологические процессы, которые происходят в твердых и мягких тканях в зоне дентальной имплантации, во многом генетически обусловлены. Возможность управлять этим процессом позволит снизить количество этапов оперативного лечения, уменьшить болезненность процедуры и ускорить восстановление полноценной функции жевательно-речевого аппарата.

Важными факторами в долговременном и стабильном результате при дентальной имплантации являются наличие достаточного объема костной ткани и прикрепленной кератинизированной десны. Недостаточное количество этих составляющих приводит к дополнительным болезненным хирургическим вмешательствам и к увеличению сроков реабилитации пациентов несъемными протезами с опорой на дентальные имплантаты [41; 42; 94; 95; 170; 175]. Существует много исследований, которые показывают, что лазерное излучение способно влиять на регенерацию и модификацию различных тканей [22; 61; 109; 171; 172].

Фракционная лазерная микрокоагуляция («Laser Patterned Microcoagulation technology») – это микрохирургический метод локальной деструкции ткани инфракрасным лазерным излучением. Методика представляет из себя воздействие лазерным излучением ближнего или среднего инфракрасного диапазона, при котором на участок ткани наносится матрица из точечных термических зон повреждения, окруженных зонами жизнеспособной ткани.

Основным приоритетом данной технологии является чередование зон лазерного повреждения и не тронутой жизнеспособной ткани, что влияет на ее более быструю регенерацию [113; 169]. Atalay et al. (2009) показали, что восстановление ткани происходит за счет активации белков теплового шока вокруг зон лазерного повреждения, которые участвуют в механизме клеточной репарации [34]. Также, Nantash et al. (2007) доказали, что подобное лазерное

воздействие стимулирует образование нового коллагена I и III типа в зонах лазерного повреждения [80]. Поэтому, в настоящее время фракционная лазерная микрокоагуляция активно применяется в косметологии для проведения процедур по омоложению кожи и лечению различных дефектов кожи, например, растяжек и рубцов. Фракционная лазерная микрокоагуляция или иначе, неабляционный лазерный фототермолиз, имеет большую популярность в практической медицине благодаря тому, что процедура является минимально инвазивной, но при этом высоко эффективной.

Поверхность дентальных имплантатов является одним из основных факторов, влияющих на процесс остеоинтеграции [25]. Puleo et al. подтвердили, что не только макродизайн имплантата, но также и микродизайн поверхности влияет на создание эффективного клинического и гистологического взаимодействия между костной тканью и имплантатом [136]. Во некоторых исследованиях было продемонстрировано, что различные виды обработки поверхности имплантата способны оказывать значительное влияние не только на количество костных клеток, которые контактируют с титаном, но также и на скорость прикрепления клеток костной ткани к поверхности имплантата [58; 59].

Возможность модификации твердых и мягких тканей в зоне имплантации, а также поверхности имплантатов во многом будет способствовать улучшению результатов реабилитации пациентов с опорой на имплантаты.

Степень разработанности темы исследования

В последнее время наблюдается крайне высокий успех остеоинтеграции дентальных имплантатов, который при наличии должных анатомических условий может составлять до 99% [25; 127]. Однако, при недостаточном количестве твердых или мягких тканей в зоне планируемой имплантации встает вопрос о необходимости восполнения утраченного объема за счет дополнительных оперативных вмешательств. Поэтому крайне актуальным является поиск альтернативных методов регенерации тканей.

Фракционная лазерная микрокоагуляция является широко распространённой технологией, которая активно применяется в косметологии и дерматологии для лечения рубцов, шрамов, морщин, а также оказывает омолаживающий эффект. Данная методика не распространена в стоматологической практике, хотя имеет хороший потенциал за счет активного кровоснабжения тканей полости рта и высокого регенераторного потенциала.

Структура поверхности дентальных имплантатов, а также их макро- и микродизайн оказывают большое влияние на успех остеоинтеграции. Лазерное структурирование дентальных имплантатов представляет собой инновационный метод обработки поверхности, позволяющий получить однородную и не загрязненную структуру, выполнив всего один технологический этап.

Однако, одним из нерешенных вопросов является следующий - какой тип упорядоченного микрорельефа поверхности, который возможно создать благодаря лазерному воздействию, будет наиболее привлекательным для клеток костной ткани.

Цель исследования

Улучшение результатов имплантологического лечения, за счёт лазерной биомодификации твердых и мягких тканей в периимплантной зоне и поверхности имплантата.

Задачи исследования

- 1) Обосновать на экспериментальной модели изменение качественных и количественных характеристик костной ткани после воздействия диодными лазерами с длинами волн 980 нм и 1550 нм.
- 2) Сравнить характер изменений в костной ткани в зависимости от длины волны 980 нм и 1550 нм диодных лазеров.
- 3) Разработать методику облучения мягких тканей в зоне дентальной имплантации с использованием фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм.

- 4) Оценить возможность увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны в зоне имплантации с применением методики фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм.
- 5) Оценить стабильность и остеоинтеграцию имплантатов, структурированных с помощью иттербиевого лазера с длиной волны 1064 нм.
- 6) Сравнить две различные поверхности дентальных имплантатов, структурированных с помощью иттербиевого лазера с длиной волны 1064 нм.

Научная новизна

- 1) Впервые изучено применение диодного лазера с длиной волны 1550 нм на костную ткань лабораторных животных для оценки регенераторной способности тканей.
- 2) Впервые произведено сравнение эффектов от воздействия диодными лазерами с длинами волн 980 нм и 1550 нм на состояние интактной костной ткани и в зоне с созданием дефектов.
- 3) Впервые доказано возможное увеличение ширины прикрепленной десны в зоне проведенной имплантации, за счет фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм.
- 4) Впервые изучена стабильность и остеоинтеграция дентальных имплантатов с различным микрорельефом поверхности, структурированных с помощью иттербиевого лазера с длиной волны 1064 нм.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана методика облучения мягких тканей в зоне дентальной имплантации с использованием фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм. Благодаря применению данной методики возможно добиться увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны в зоне дентальных имплантатов при небольших мукогингивальных дефектах и не выполнять дополнительную аугментацию мягких тканей.

Результаты исследования по лазерному структурированию поверхности имплантатов явились основанием для получения регистрационного удостоверения на медицинское изделие (дентальные имплантаты «LENMIRIOT») производителем ООО «Техник +» (РУ № РЗН 2020/9622 от 11.02.2020 г.).

Методология и методы исследования

Исследование выполнено в соответствии с основными принципами доказательной медицины, изложенными в Хельсинкской декларации (от 1964 г.) в г. Хельсинки, Финляндия, и пересмотренной г. Эдинбург, Шотландия (в 2000 г.), и одобрено Локальными Этическими комитетами ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

Диссертационная работа является клинико-экспериментальным исследованием, в которой были применены методы научного познания, а также последовательное использование доказательств.

Среди теоретических методов необходимо отметить восхождение от абстрактного к конкретному, идеализацию и формализацию; среди экспериментальных методов – наблюдение, моделирование и сравнение.

Экспериментальная часть работы производилась в два этапа. Регенеративные свойства костной ткани после лазерного воздействия изучались на теменных костях лабораторных животных (кролики, самцы породы «Советская Шиншилла»). Установка дентальных имплантатов, структурированных иттербиевым лазером осуществлялась в большеберцовые кости кроликов.

После вывода животных из эксперимента для изучения регенерации костной ткани по плану производилось вскрытие, препарирование и подготовка препаратов по общепринятым гистологическим методикам с использованием методов окрашивания, а затем проводилось микроскопическое исследование. Для исследования препаратов, содержащих в себе титановые имплантаты и окружающую костную ткань, применялся специальный метод подготовки образцов не декальцинированной костной ткани.

В завершении применяли метод гистоморфометрического анализа для количественной оценки изменений в костной ткани, а также для анализа остеointеграции дентальных имплантатов.

Клиническая часть работы представляла из себя проспективное исследование одной группы пациентов, которым выполнялась фракционная лазерная микрокоагуляция в зоне установленных дентальных имплантатов. Для изучения объектов исследования были использованы: метод клинического обследования пациентов, фотографирование, измерение ширины прикрепленной десны с использованием инструментария, метод «десневого» валика, метод статистического учёта, обработки и анализа медицинских данных.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Фракционная лазерная микрокоагуляция является эффективным и безопасным методом воздействия на мягкие ткани в зоне дентальной имплантации. Данная методика является безболезненной для пациентов и не имеет послеоперационного дискомфорта у 87,1% пациентов.
- 2) Благодаря применению фракционной лазерной микрокоагуляции возможно добиться увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны в зоне дентальных имплантатов в среднем на 0,90 мм (95% ДИ 0,80-0,90) за 4 сеанса лазерной терапии с интервалом в 2 недели между сеансами.
- 3) Наиболее выраженные процессы деструкции отмечаются при использовании диодного лазера с длиной волны 1550 нм. Однако, в 6 случаях из 10 отмечалось образование молодой костной ткани в группе животных с созданием дефекта и воздействием на него лазерного излучения уже на ранних послеоперационных сроках.
- 4) Дентальные имплантаты с лазерно-модифицированным биосовместимым покрытием обладают большим интеграционным потенциалом. Поверхность имплантата со структурой по типу «канавки» имеет преимущество по сравнению со структурой по типу «лунки» при оценке стабильности (76,8 у.е

при частотно-резонансном анализе) и остеointеграции имплантатов (BIC-индекс поверхности 80%).

Степень достоверности и апробация результатов

Научные доклады с результатами исследования были представлены и обсуждены на отечественных и международных конгрессах, конференциях, симпозиумах и форумах: на конференции «The Academy of Laser Dentistry» (Palm Springs, USA, 5-7 February, 2015); на конференции 24 Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery (Munich, Germany, 18-21 September, 2018); юбилейная научно-практическая конференция стоматологов и челюстно-лицевых хирургов, посвященная 120-летию стоматологического образования в Российской Федерации, «Стоматологическое образование и наука XXI века» (Санкт-Петербург, 25-26 января, 2019); 56-я научно-теоретическая конференция на иностранных языках, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 19 апреля, 2019); на конференции 3-rd International Conference on Craniofacial Surgery (Rome, Italy, 15-16 августа, 2019); Международная Научно-практическая конференция, посвященная 60-летию основания стоматологического факультета ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, Непрерывное Медицинское Образование в стоматологии – от школьной скамьи до высот профессионализма (Санкт-Петербург, 16-17 сентября, 2019); Симпозиум «Актуальные вопросы хирургической стоматологии и черепнолицевой хирургии» (Екатеринбург, 26 февраля, 2021); на конгрессе 25 Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery (Paris, France, 14-16 July, 2021).

Апробация диссертационной работы проведена на кафедральном заседании кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России, а также на проблемной комиссии стоматологического факультета ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор диссертационного исследования сформулировала тему исследования, определив его цель и задачи, самостоятельно изучила и провела анализ научной литературы по теме диссертационного исследования, отбор пациентов, принимала активное участие в описании и трактовке результатов гистологического и гистоморфометрического анализа, самостоятельно выполняла оперативные вмешательства на экспериментальных животных и пациентах, собрала и проанализировала полученные данные с последующей математико-статистической обработкой и формулировкой выводов и практических рекомендаций, принимала активное участие в подготовке и публикации результатов исследования. Текст диссертации и автореферат написаны лично автором.

Публикации

По теме диссертации было опубликовано 20 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных периодических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России для опубликования научных результатов диссертаций и 1 статья в рецензируемом научном периодическом издании, входящем в реферативную базу данных и систему цитирования “Scopus”.

Объём и структура работы

Диссертация состоит из введения, четырех глав основной части, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 182 работы, из которых 19 отечественных источников и 163 зарубежных источников. Она изложена на 188 страницах текста компьютерного набора, содержит 6 таблиц и 111 рисунков.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В настоящее время в стоматологии наиболее научно обоснованным, универсальным и эффективным видом лечения при потере зубов является дентальная имплантация. Протезирование с опорой на имплантаты способно решить не только функциональные проблемы полости рта, но и восстановить эстетический компонент улыбки, что способствует повышению качества жизни пациентов [18; 167].

Зафиксирован постоянный рост числа пациентов, обращающихся за протезированием с опорой на дентальные имплантаты. По данным Р.А. Аванесяна и соавторов (2015) обычно это пациенты трудоспособного возраста от 30 до 49 лет, в основном женщины [1].

В последние десятилетия удалось достичь высоких цифр остеоинтеграции дентальных имплантатов и успех данного вида лечения при наличии должных анатомических условий может составлять до 99% [25; 127; 174]. Перед клиницистами уже давно не стоит вопрос об интеграции имплантата, а скорее имеется задача в обеспечении стабильности результата лечения на многие годы.

Важными факторами, влияющими на долговременный и стабильный результат дентальной имплантации, являются наличие достаточного объема костной ткани, прикрепленной кератинизированной десны, хороший уровень гигиены полости рта, позиционирование имплантата в верной ортопедической позиции, а также характеристики самого имплантата (материал, макро и микродизайн, структура его поверхности). В основном недостаток этих условий приводит к дополнительным болезненным хирургическим вмешательствам и к увеличению сроков реабилитации пациентов несъемными протезами с опорой на дентальные имплантаты [41; 42; 95; 100; 170; 175]. Поэтому возможность влиять на процесс регенерации в периимплантной зоне может снизить количество этапов

оперативного лечения, уменьшить болезненность процедуры и ускорить восстановление полноценной функции жевательно-речевого аппарата.

1.1 Факторы, влияющие на долгосрочный результат имплантологического лечения

Количество и качество костной ткани, а также процесс остеоинтеграции являются одними из наиболее важных факторов, определяющих долгосрочный клинический результат имплантации [51].

Утрата зубов часто сопровождается атрофией альвеолярной кости, особенно в области вестибулярной костной стенки. Этот процесс крайне выражен в первые несколько месяцев после проведенного удаления зуба. Araújo et al. (2006) показали, что наиболее быстро резорбция костной ткани происходит в первые 3 месяца после удаления зуба [33]. Далее этот процесс замедляется к 6 месяцам после удаления зуба и почти полностью прекращается через 1-2 года. По данным Schropp et al. (2003) давно доказано, что в течении 12 месяцев после удаления зуба альвеолярный гребень может уменьшаться в ширину до 50 % [39]. Однако и в последующем костная ткань может уменьшаться в объеме в результате отсутствия жевательной нагрузки, а также может дополнительно подвергаться давлению съемного протеза. Скорость резорбции также может зависеть от методики, применяемой хирургом во время удаления, и от локализации удаляемого зуба. Рядом авторов показано, что в боковых отделах резорбция протекает более выражено, чем в переднем отделе. А на нижней челюсти она идет более активно, чем на верхней [39].

Успех имплантологического лечения, а именно обеспечение долговременной эстетической и функциональной стабильности, также зависит от верного 3D-позиционирования имплантата относительно будущей ортопедической конструкции. В особенности это имеет значение при

планировании имплантации в эстетически значимой зоне [132]. При недостаточном вертикальном или горизонтальном объеме костной ткани для установки имплантата в правильном положении может быть показано проведение различных регенеративных методик, выбор которых будет зависеть от объема дефекта, качества костной ткани, анатомических особенностей дефекта и мануальных навыков хирурга-стоматолога [87; 170].

Качество костной ткани, а именно соотношение кортикального и губчатого компонента, является одним из ключевых факторов, влияющих на возможность достижения высокой первичной стабильности имплантата. Кроме того, этот параметр напрямую влияет на возможность немедленной нагрузки временной ортопедической конструкцией с опорой на дентальный имплантат [86]. Первичная стабилизация определяется как биомеханическая стабильность непосредственно при установке имплантата и в послеоперационном периоде будет крайне зависеть от образования молодой костной ткани на границе с имплантатом в процессе заживления [120; 138]. Также на достижение адекватной первичной стабильности, помимо качества и количества костной ткани, влияет макродизайн имплантата, характеристики его поверхности и протокола препарирования ложа под имплантат [90].

Таким образом, недостаточное количество костной ткани, а также снижение её качества, может стать противопоказанием для установки дентального имплантата без проведения дополнительной аугментации.

Мягкие ткани полости рта выполняют защитную функцию по отношению к костным структурам, создавая барьер от внешней среды и бактериального налета [147]. Прикрепленная кератинизированная десна способна противостоять бактериальной инвазии, защищает от механических травм, способна выдерживать определенный объем жевательной нагрузки, а также упрощает проведение индивидуальной гигиены полости рта. При тонком биотипе и недостаточном объеме прикрепленной десны может происходить воспаление тканей при неудовлетворительной гигиене полости рта с последующим развитием рецессии десны [52]. Berglundh et al. (1992) в своем исследовании показали способность

костной ткани к резорбции при отсутствии адекватного стабильного объема прикрепленной десны [155].

В. Rosenquist (1997) выделил несколько факторов, которые влияют на эстетическое и функциональное состояние мягких тканей, окружающих дентальный имплантат [145]:

- 1) Ширина и расположение прикрепленной кератинизированной десны.
- 2) Вестибулярный контур мягких тканей и объем костного компонента.
- 3) Высота мягких тканей относительно платформы дентального имплантата.
- 4) Объем десневых сосочков.

В научной литературе остается нерешенным вопрос о том, какая минимально допустимая ширина прикрепленной кератинизированной десны в области зубов и имплантатов обеспечивает долговременный результат.

Давно доказано, что наличие широкой зоны кератинизированной десны вокруг зубов создает надежный барьер от внешней среды полости рта, защищает от возникновения воспаления, которое может быть вызвано мягким и твердым налетом, обеспечивает профилактику возникновения рецессий десны и влияет на более эстетичный и гармоничный вид мягких тканей [124; 159].

Прикрепленная кератинизированная десна крайне вариабельна по своему объему, обусловлена биотипом и является генетически детерминированным признаком. При тонком биотипе менее выражены слои шиповатых клеток, кровеносное русло представлено тонкими и узкими артериолами и капиллярами. При толстом биотипе соответственно наблюдаются более выраженные слои шиповатых клеток, кровеносное русло состоит из артериол и капилляров с широким просветом. Давно известно, что клетки шиповатого слоя оказывают большое влияние на регенераторный потенциал и защитную функцию эпителия, так как имеют хорошо развитые пучки тонофиламентов и содержат в цитоплазме кератиносомы. Эта гистологическая особенность влияет на успех проведения многих хирургических процедур в полости рта и определяет предпочтение толстого биотипа десны в том числе при дентальной имплантации [4].

A.L. Freedman (1999) показал отдаленные результаты наблюдений (около 18 лет) за стабильным состоянием десневого края вокруг зубов при малом объеме прикрепленного компонента [30].

Напротив, G. Agudio и M. Nieri (2009) сравнили отдаленные результаты наблюдений за пациентами, которым проводили хирургическое вмешательство по закрытию рецессий десны у зубов. После проведенного анализа авторы отметили стабильное состояние десневого контура у пациентов, которые перенесли хирургическое вмешательство, и соответственно, прогрессирование рецессий у не оперированных пациентов [23].

В исследовании Г.И. Ронь и соавторов (2008) показана зависимость объема прикрепленной кератинизированной десны на успех лечения пациентов с различными заболеваниями пародонта, в результате чего выявлена важность наличия достаточного объема данного вида десны для прогноза эффективности лечения [15]. Авторы рекомендуют проводить хирургическое вмешательство по увеличению зоны кератинизированной десны у пациентов с дефицитом этой ткани, а именно при ширине менее 2 мм.

Наличие необходимого объема кератинизированной десны имеет огромное значение и вокруг супраструктур дентального имплантата, так как происходит образование плотной прикрепленной манжетки и тем самым выполняется защита от проникновения бактерий к имплантату. Прикреплённая кератинизированная десна и костный гребень являются главным функциональным барьером между дентальным имплантатом и полостью рта.

Lang и Loe (1972) установили, что при ширине прикрепленной кератинизированной десны менее 2 мм отмечается более выраженное воспаление тканей [100]. Однако, данная гипотеза не подтверждается другими авторами, которые предполагают, что десна может являться стабильным и надежным барьером и без данного количества (2 мм) кератинизированной ткани. Так, Wennstrom и Lindhe (1983) в экспериментах на лабораторных животных установили, что при наличии воспалительного инфильтрата, его распространение на участках без прикрепленной кератинизированной десны не отличалось от зон

с достаточным ее объемом [178; 179]. В клиническом исследовании Dorfman et al. (1985) на протяжении 5 лет также не отметили более интенсивной потери прикрепления у супраструктур имплантата при дефиците прикрепленной десны [20; 56].

Также продолжается дискуссия в научной литературе о необходимой ширине прикрепленной кератинизированной десны вокруг дентального имплантата. Ранее считалось, что для сохранения здорового состояния костных и мягких тканей необходимо создать вокруг имплантата манжету из кератинизированной десны [123], однако в большей степени стабильность мягких тканей зависит от прочности эпителиального прикрепления, нежели от наличия прикрепленной кератинизированной десны [156; 157]. Также несмотря на то что в экспериментах на животных было установлено, что недостаточная ширина прикрепленной кератинизированной десны повышает риск возникновения периимплантита, вызванного бактериальной инвазией при отсутствии должной индивидуальной гигиены за ортопедической конструкцией, эта гипотеза не нашла подтверждения в ходе клинических испытаний [36; 152].

Хорошая гигиена полости рта, в том числе и за реставрациями с опорой на имплантат, оказывает большое влияние на долгосрочную стабильность дентальных имплантатов [107]. В связи с тем, что имеются гистологические различия между тканями, окружающими зубы и дентальные имплантаты, в частности отсутствуют перпендикулярные соединительнотканые волокна, которые имеются в опорном аппарате зубодесневого комплекса, отсутствие необходимого объема прикрепленной кератинизированной десны затрудняет индивидуальную гигиену за ортопедическими конструкциями и повышается риск развития воспаления в области имплантатов [28; 123].

Большинство авторов имеют схожее мнение, что отсутствие должного объема прикрепленной кератинизированной десны увеличивает уязвимость тканей, окружающих дентальный имплантат [9; 165]. Наличие должной ширины прикрепленной кератинизированной десны вокруг супраструктур имплантата является более предпочтительным у клиницистов, так как можно получить

лучший эстетический результат, снизить риск возникновения рецессий десны у имплантата, уменьшить вероятность мукозита, а в последствие и периимплантита, облегчить этап протезирования и создать хорошие условия для должной самостоятельной гигиены полости рта [35].

1.2 Методики регенерации костной ткани в зоне планируемой имплантации

В современной стоматологии имеется большое количество методов регенерации альвеолярной костной ткани, однако все они основаны на нескольких основных способах восстановления костной ткани. F. Khoury (2017) выделил 3 процесса – остеокондукцию, остеоиндукцию и остеогенез [96].

Заполнение костной тканью различных дефектов происходит в процессе остеокондукции, то есть формирования матрицы или каркаса, на котором костные клетки синтезируют новообразованную кость. Остеокондуктивный материал должен быть биоинертным и биоактивным, необходимо чтобы он полностью резорбировался и замещался новообразованной костной тканью.

Пересадка аутогенного трансплантата, содержащего естественные костные клетки, которые способны синтезировать новую кость обеспечивает процесс остеогенеза. Большое значение имеет минимальная травматичность забора аутогенной костной ткани для сохранения жизнеспособности клеток. Любые синтетические материалы не имеют в своем составе живых костных клеток, поэтому не могут обеспечивать восстановление костной ткани по принципу остеогенеза.

Аутогенная костная ткань, являющаяся золотым стандартом и идеальным материалом для трансплантации, также обладает и остеоиндуктивной функцией, то есть стимулирует костные и недифференцированные мезенхимальные клетки к делению, дифференцировке и секреции, что обеспечивает синтез новой костной

ткани. Среди медиаторов наиболее важную роль имеют костные морфогенетические протеины (ВМР), которые стимулируют дифференциацию полипотентных мезенхимальных стволовых клеток в костеобразующие клетки.

Известно, что в стоматологии недостаточный объем костной ткани значительно может влиять на качество проведенного имплантологического лечения [48]. В связи с этим, для современной стоматологии важно иметь возможность контролировать процесс регенерации кости. Например, стимуляция регенерации костной ткани может быть чрезвычайно полезна при лечении болезней пародонта, а также для получения необходимого объема кости для имплантации и др.

В стоматологии широко используются различные методы регенерации костной ткани. Основные способы увеличения объема костной ткани – это пересадка костных блоков, направленная костная регенерация, 3Д-реконструкция костной ткани, предложенная в 2006 году F. Khoury [41; 95; 100]

Пересадка костных блоков является «золотым стандартом» для костной пластики дефектов верхней и нижней челюстей [42; 175]. В некоторых исследованиях показано применение аутогенных костных блоков, которые поддерживали дополнительным слоем костных материалов и мембран, однако такой способ ассоциирован со значительным дискомфортом и болевым синдромом, а также большим риском осложнений со стороны донорской зоны [170]. Более того, по данным Buser (1995) и Maiorana (2005) аутокостные блоки подвержены значительной резорбции, что существенно снижает эффективность данной процедуры [42; 112].

Направленная костная регенерация используется для возмещения различных костных дефектов, начиная от щелевидных и окончатых дефектов и заканчивая «Sausage Technique», предложенная I. Urban [170]. В основном данная методика используется для увеличения ширины альвеолярного гребня и предполагает применение резорбируемых мембран в сочетании с аутогенной костной стружкой и ксенопластическим костным материалом, которые используются в объеме 1:1. Клиническая и гистологическая эффективность

направленной костной регенерации была показана во многих научных статьях [160]. Важно отметить, что наиболее частое осложнение данной методики – это экспозиция и последующее возможное инфицирование мембраны, которое встречается в 12,5-17% случаев [40].

Трехмерная пластика костной ткани, предложенная F. Khoury, представляет из себя реконструкцию двух костных стенок с помощью костных блоков и заполнении пространства между ними костной стружкой, которая является либо аутогенной, либо может представлять из себя смесь аутогенной стружки и ксенопластического материала. Костные блоки обрабатываются таким образом, чтобы получились тонкие пластинки. Эти костные пластинки восстанавливают вестибулярную и язычную или вестибулярную и окклюзионную стенки, тем самым создавая каркас, способный восстановить как горизонтальные, так и вертикальные дефекты [94; 96].

Недостатками вышеперечисленных методов являются послеоперационный болевой синдром, длительный период лечения и необходимость наличия у врача высокого уровня мануальных навыков в области реконструктивной хирургии. Таким образом, уменьшение боли в послеоперационном периоде, сокращение сроков лечения и упрощение лечебных манипуляций подталкивают на поиск новых методов регенерации костной ткани.

1.3 Методики регенерации мягких тканей в зоне имплантации

Восстановление необходимого объема мягких тканей в зоне дентальных имплантатов в основном осуществляется оперативным способом. Методики по аугментации мягких тканей можно разделить на несколько основных групп: пересадка свободных десневых трансплантатов, пересадка соединительнотканых трансплантатов, смещение лоскутов, подворачивание лоскутов [75].

Bjorn et al. (1963) первые описали применение свободных десневых трансплантатов для увеличения зоны прикрепленной кератинизированной десны [38; 124]. Однако активно стал применяться среди практикующих врачей лишь в 1968 г. после того, как Sullivan и Atkins опубликовали серию из нескольких статей, где подробно описали показания, противопоказания, протокол операции и особенности заживления [159]. Далее в 1974 г. была описана методика применения соединительнотканых трансплантатов, предложенная Karring и Lang, которые подробно описали свойства трансплантатов [92; 93].

Выбор места забора трансплантата и его толщины зависит от индивидуальных предпочтений хирурга, необходимой цели применения трансплантата и его функциональной нагрузки. В 1968 г. Sullivan и Atkins в своей статье предложили классификацию трансплантатов, а также подробно описали обоснование применения трансплантатов различной толщины для достижения необходимых целей [159].

По данным Э.С. Коэн (2011) тонкими и средними аутооттрансплантатами считаются толщиной от 0,5 до 0,75 мм, и они могут быть применены для увеличения зоны прикрепленной кератинизированной десны, а также обеспечивают хороший эстетический результат [12; 44]. Тонкослойные трансплантаты подвержены минимальному уменьшению размеров, то есть усадке, так как состоят из малого количества эластических волокон. Однако, вторичная усадка у таких трансплантатов наоборот выражена более значительно и в среднем составляет 25-45% [141].

Толстые или иначе слизисто-надкостничные трансплантаты имеют толщину 1,25-2,0 мм. Часто использование данных трансплантатов может привести к неудовлетворительному эстетическому результату, может напоминать «заплатку», а также подвержены значительной первичной усадке из-за содержания большого количества эластических волокон, при этом вторичная усадка практически отсутствует. Толщина трансплантата также влияет на увеличение периода реваскуляризации [12].

Показаниями для применения свободной десневой аутоотрасплатации являются [12; 50] являются крайне обширными:

- 1) Увеличение зоны прикрепленной кератинизированной десны.
- 2) Увеличение глубины преддверия полости рта.
- 3) Корректировка объема мягких тканей в зоне отсутствующих зубов для подготовки к протезированию.
- 4) Коррекция уздечек и прикрепления мышц.
- 5) Пластика рецессий у зубов и имплантатов (не рекомендуется применять в эстетически значимой зоне).

Первым этапом операции является подготовка реципиентной зоны, при которой необходимо произвести апикальное смещение подвижной слизистой оболочки, далее удалению мышечных волокон и тяжей, а также необходимо зафиксировать перемещенную слизистую на новой глубине преддверия полости рта.

Вторым этапом производится забор слизистой оболочки необходимого размера с донорской зоны, которой обычно является твердое небо, а далее осуществляется фиксация данного фрагмента к надкостнице принимающей зоны.

Наиболее частыми осложнениями при проведении методики свободной десневой аутоотрасплатации являются забор трансплантата меньшего размера, частичная перфорация трансплантата, недостаточная фиксация трансплантата в реципиентной зоне, некроз трансплантата. По данным G. Zucchelli (2014) наиболее частыми причинами полного или частичного некроза трансплантата являются слишком большая толщина трансплантата, не плотное прилегание к реципиентной зоне, недостаточная фиксация трансплантата, неверное позиционирование трансплантата, а также нарушение кровоснабжения в реципиентной зоне различного генеза [50].

По данным А.Ю. Февралёвой и А.Л. Давидяна (2007) заживление тканей после проведения свободной десневой аутоотрасплатации проходит в несколько этапов [16]:

1) Плазматическая циркуляция

Питание трансплантата в первый и второй день после пересадки осуществляется за счет диффузии из реципиентного участка через кровяной сгусток.

2) Прорастание сосудов

Начало пролиферации сосудов происходит уже через 24 часа после операции, а прорастание сосудов осуществляется через 48-72 часа после операции, причем некоторые из них способны образовать анастомозы с трансплантатом.

3) Прорастание соединительной ткани и присоединение сосудов

Интеграция трансплантата со слизистой реципиентного участка происходит с 4 по 10 сутки после операции, в этот период происходит усадка трансплантата, которая может составлять до 33% его объема. Полная прорастание аутоотрансплантата с реципиентной зоной происходит примерно через 2 недели после операции, происходит восстановление микроциркуляции в зоне трансплантации.

4) Полная интеграция трансплантата с реципиентной зоной.

Эпителизация свободных десневых аутоотрансплантатов наблюдается примерно через 3 недели после операции и характеризуется высокой степенью кератинизации трансплантата [121]. Окончательное созревание трансплантата происходит на протяжении трех месяцев.

По данным Е.А. Дурново и соавторов (2014) использовать перед пересадкой специальный раствор на основе перфторуглеродов и выдерживать некоторое время с целью ускорения процесса регенерации [6]. В группе пациентов с использованием данного раствора авторами наблюдалось прорастание трансплантата с реципиентной зоной уже на 4-5 сутки после операции. Также интересным фактом является то, что после применения данного раствора трансплантат меньше подвергался вторичной усадке и сохранял свою толщину, а в контрольной группе без применения данного раствора перед пересадкой наблюдались незначительные атрофические изменения эпителиальных клеток.

Рекомендуется использовать десневой трансплантат для пластики мягких тканей более тонкий по толщине в зоне зубов и более толстый в зоне имплантации. В большем по толщине трансплантате лучше сохраняется микрососудистое русло, которое способно быстрее вовлекаться в кровоснабжение, но первичный этап диффузии через кровяной сгусток протекает сложнее.

Более толстый свободный десневой аутооттрансплантат можно получить на небе в зоне от второго моляра до клыка, но также и в ретромолярной области, области бугра верхней челюсти или же зоне адентии [10].

Главной проблемой и ограничением использования данной методики является невозможность проведения ее в эстетически значимой зоне, в особенности у пациентов с десневым типом улыбки, так как по цвету трансплантат не соответствует соседним мягкими тканями. Доказано, что трансплантат, взятый с определенной зоны, дублирует фенотип определенной ткани даже после пересадки. Поэтому трансплантат после пересадки часто напоминает фрагмент неба, откуда в основном происходит забор ткани, не соответствует соседним тканям по цвету и выглядит более светлым, а текстура может даже напоминать рельеф твердого неба. Но несмотря на данные эстетические недостатки метода, он является наиболее предсказуемым для увеличения необходимого объема прикрепленной кератинизированной десны и в боковых участках является методом выбора.

Развитие и усовершенствование методов мягкотканной аугментации привело к появлению методики пересадки субэпителиального соединительнотканного трансплантата, который является свободным десневым трансплантатом без эпителиального компонента, но благодаря этому обеспечивает более лучшие эстетические результаты трансплантации.

Многими клиницистами успешно применяется пересадка соединительнотканых трансплантатов в разных модификациях для пластики рецессий в области зубов и имплантатов, и на данный момент является «золотым стандартом» [16]. Главные преимущества использования соединительнотканых

трансплантатов – это более низкая вероятность послеоперационных осложнений в донорской зоне, более благоприятный для пациента реабилитационный период, обеспечение более быстрого кровоснабжения между трансплантатом и реципиентной зоной, а также значительно более лучшие эстетические результаты проводимой пересадки по сравнению со свободными десневыми трансплантатами.

Преимуществом деэпителизированного трансплантата является то, что он располагается под лоскутом и способен получать кровоснабжение сразу из двух источников – надкостницы и покрывного лоскута, что становится основным компонентом высокой эффективности данной методики. Однако, данный вид трансплантата может подвергаться значительной первичной усадке по причине отсутствия эпителиального компонента, но меньшей вторичной усадке за счет наличия толстой собственной пластинки.

Существуют различные показания для использования субэпителиальных соединительнотканых трансплантатов [16]:

- 1) Увеличение толщины слизистой оболочки в области зубов и имплантатов.
- 2) Пластика рецессий.
- 3) Контурная корректировка десны у имплантата для устранения «просвечиваний».
- 4) Работа с объемом десны в зоне адентии перед этапом протезирования.
- 5) Другие показания (работа с десневыми сосочками, корректировка рубцов и другие).

Однако данная методика не столь эффективна для создания зоны прикрепленной кератинизированной десны при ее отсутствии или малой ширине.

Т. Karring (1971) провели эксперимент на лабораторных животных (обезьянах), в ходе которого проводилась пластика с применением соединительнотканых трансплантатов на верхней и нижней челюсти, в качестве донорского участка использовалось твердое небо [93]. Авторы доказали, что

данный вид трансплантата сохраняет свои свойства даже через полгода после операции и является своеобразным клеточным депо.

Также во многих работах отмечено, что после пластики с применением соединительнотканых трансплантатов невозможно получить столь широкую зону керанизированной десны, как при проведении свободной десневой аутоотрансплантации.

А.Ю. Февралёва и А.Л. Давидян (2007) высказали предположение, что усадка соединительнотканых трансплантатов может быть связана с некорректной техникой забора ткани из донорского участка, в трансплантате могут содержаться не стабильные элементы, такие как жировая и железистая ткань. Поэтому авторы рекомендуют производить забор полнослойного трансплантата с эпителиальной полоской и далее осуществлять дезэпителизацию. Более того под слоем эпителия трансплантат содержит базальную мембрану, благодаря которой происходит непосредственное формирование и кератинизация эпителия.

G. Zucchelli et al. (2014) сравнили 2 способа забора трансплантатов: метод «открытого» забора тканей и менее травматичную методику «мышеловки» с сохранением эпителиального слоя. Авторы не было отмечено статистически значимой разницы при оценке дискомфорта у пациентов в донорской зоне в послеоперационном периоде [50].

В некоторых клинических случаях забор трансплантата с неба может быть ограничен в связи с некоторыми анатомическими особенностями, например, выраженный свод неба или дефицит необходимой ткани по толщине в донорской зоне. Поэтому альтернативной зоной для забора трансплантата являются бугры верхней челюсти, которые обычно значительно превалируют по толщине соединительной ткани. Иногда толщина тканей в данной зоне на верхней челюсти может достигать более 1 см. Гистологически зона бугров не содержит подслизистого слоя, поэтому сразу за эпителиальным слоем следует плотная соединительная ткань [16]. Однако данная зона ограничена по длине

и не позволяет получить трансплантат необходимой протяженности, что не дает использовать эту зону для решения многих задач.

Методики по аугментации мягких тканей и их модификации эффективны и хорошо изучены, однако часто сопровождаются послеоперационной болезненностью и для пациентов являются дополнительным вмешательством. Поэтому актуальной проблемой является поиск альтернативных безоперационных решений, способных влиять на объем и качество мягких тканей в зоне дентальных имплантатов.

1.4 Опыт применения диодных лазеров для регенерации твердых и мягких тканей полости рта

В последние годы наблюдается большой интерес к использованию лазерного излучения для регенерации различных тканей и органов. Фракционные лазерные технологии на настоящее время стали крайне популярными популярными в практической медицине.

Диодные лазеры накопили большую доказательную базу, как эффективный инструмент в регенеративной медицине, в том числе и в стоматологии для улучшения процессов заживления и лечения различных функциональных нарушений. Лазерная терапия оказывает хорошее противовоспалительное действие, способна снимать отеки и снижать болевой синдром [66]. В научной литературе показано, что диодные лазеры низкой мощности обладают стимулирующим эффектом на различные виды клеток, в том числе клетки костной ткани [59; 109]. Также в качестве дополнительных свойств такого лазерного воздействия отмечается повышение активности щелочной фосфатазы и экспрессия гена остеокальцина [63].

Лазерные технологии произвели прорыв для стоматологической практики. Благодаря широкому диапазону длин волн, мощностей, различных видов

устройств, применение в стоматологии может быть крайне обширно: от хирургических операций на твердых тканях с использованием лазеров с высокой мощностью до малоинвазивного, но очень эффективного излучения на мягкие ткани с использованием лазеров низкой мощности. В стоматологической практике существует большой спрос на использование малоинвазивных методик, с помощью которых происходит уменьшение болевого синдрома и дискомфорта у пациентов, а также наблюдается более быстрое заживление тканей. Поэтому применение лазеров возможно в качестве дополнительного метода для достижения этих целей. Однако точные механизмы влияния различных лазеров с разными видами волн еще полностью не изучены.

Однако несмотря на все разнообразие лазерных устройств, в основе лазерных медицинских технологий лежат следующие процессы: фотохимические, которые протекают при воздействии лазеров с короткими длинами волн и вызывают различные реакции без существенного изменения температуры; термические, которые возникают при нагреве тканей в ответ на лазерное воздействие и приводят к различным термохимическим процессам и реакциям [8; 89; 118].

Каждый вид ткани в организме обладает разными оптическими свойствами, в связи с этим наблюдаются различные процессы распределения поглощенной энергии. При слабом проникновении лазерного излучения практически вся энергия аккумулируется в поверхностных слоях ткани (не более 10 мкм). При глубоком проникновении лазерного излучения, а также рассеивании внутри ткани, может происходить нагрев на большем участке ткани, нежели диаметр лазерного пучка. Если в определенных тканях рассеивание не выражено и происходит меньшее поглощение, то излучение может проникать довольно глубоко в ткани до 1 см [181].

Процесс взаимодействия тканями организма имеет сложный механизм и в основном зависит как от характеристик самого лазерного излучения (длина волны, мощность, режим обработки), так и от вида ткани (в зависимости от структуры, степени пигментации, наличия кровеносных сосудов и т.д.). Поэтому

важно понимать физические процессы при выборе лазерного устройства для решения конкретных клинических ситуаций.

Терапия диодными лазерами низкой мощности не вызывает нагревания в тканях, а скорее оказывает фотохимический эффект. CO_2 и эрбиевые лазеры вызывают иные реакции, в основном связанные с нагревом тканей, однако способны также обеспечить фотохимические эффекты при правильной настройке параметров. Поэтому крайне важно иметь глубокие знания в лазерной физике, а также понимать оптические свойства различных тканей для того, чтобы получить желаемый результат и избежать осложнений.

В нескольких исследованиях подтверждено повышение стабильности имплантатов и ВИС-индекса после лазерного облучения имплантата [70; 84; 111]. Также многие авторы отметили, что использование лазеров при операциях на мягких и твердых тканях улучшает и ускоряет заживление [110; 114-117; 134]. Более того, Mohammed et al. (2007) в своем исследовании продемонстрировали, что диодные лазеры с низкой мощностью способны усиливать процесс ревитализации, ускорять заживление поврежденных тканей и способствует регенерации нервов [122].

Однако, до сих пор в научном сообществе имеются противоречивые мнения насчет использования диодных лазеров для улучшения регенераторного потенциала костной ткани. Многие *in vivo* и *in vitro* исследования продемонстрировали положительное влияние диодных лазеров низкой мощности на ткани. Kim et al. (2012) показали, что такое лазерное воздействие увеличивает выживаемость мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани, и стимулирует выработку факторов роста в ране [68]. Fernandes и Ribeiro (2013) в клинических исследованиях использовали диодный лазер низкой мощности на начальной стадии заживления кости на модели дефекта у крыс. Результаты показали более высокое привлечение клеток, отвечающих за иммунный ответ, в место дефекта и лучшее заживление данной зоны с наличием грануляционной ткани и образованием новой кости [65].

Serera et al. (2012) наблюдали более быстрое расширение срединного небного шва и ускоренную регенерацию костной ткани в ответ на действие диодных лазеров при ортодонтическом лечении, направленном на быстрое расширение верхней челюсти [60]. Лазерное воздействие также стимулирует процесс восстановления челюстей после радиационных повреждений и может ускорить минерализацию костной ткани в лунках [67; 73].

В *in vitro* исследованиях Huertas (2013) доказано, что диодные лазеры низкой мощности оказывают стимулирующее действие на остеогенные клетки и ускоряют процесс регенерации костной ткани [59; 101]. Однако, в другом исследовании наоборот сообщалось об отсроченном заживлении переломов или отсутствии каких-либо эффектов после лазерного облучения [166]. Bloise et al. (2013) использовали диодный лазер с длиной волны 659 нм на клетках, подобных остеобластам, что привело к усилению клеточной пролиферации и дифференцировки [88]. Такие же результаты были показаны в исследовании, проведенном Stein et al. (2005) с использованием гелий-неонового лазера с длиной волны 632 нм на остеобластах человека, где также отмечался положительный эффект в пролиферации клеток и созреванию остеобластов [109].

Однако, Bouvet-Gerbetaz и Merigo (2009) использовали диодный лазер с длиной 808 нм для оценки пролиферации костных клеток, а также дифференцировки остеобластов и остеокластов на мышинных клетках костного мозга и не обнаружили значительных различий между контрольной (без лазерного воздействия) и исследуемой группами (с лазерным воздействием) [64]. С другой стороны, в исследовании с однократным воздействием диодного лазера с длиной волны 830 нм на остеобласты показано снижение роста клеток по сравнению с контрольной группой без лазерной терапии [24].

Следует отметить, что в некоторых исследованиях [46; 47; 69; 82; 102; 103; 168] сообщалось о необратимом повреждении, воспалении и долгом заживлении костной ткани после лазерной обработки.

L. Friesen (1999) сообщает, что костные дефекты, сформированные лазером, по сравнению с дефектами, сформированными бором, показали более медленное

заживление, которое, по-видимому, было связано с наличием в костной ткани элементов остаточного обугливания [102]. В исследовании McDavid и Cobb (2001) пришли к выводу, что заживление костной ткани было сильно задержано при воздействии CO₂ и Nd: YAG-лазерами на кость [103]. A. Pourzarandian (2003) показывает, что большое количество некроза, обуглившейся и карбонизированной ткани с полиморфноядерными лейкоцитами были основными гистологическими признаками в образцах после лечения CO₂-лазером. Минерализация была выявлена только в нескольких зонах и отсутствовало костеобразование в остальных областях через 14 дней после лечения CO₂-лазером, в отличие от использования эрбиевого лазера [47]. M. Buchelt (1994) отмечал, что после воздействия Ho: YAG-лазера образцы костей крыс показали карбонизацию. Дефекты костной ткани, обработанные Ho: YAG-лазером, показали наличие плотной фиброзной ткани, карбонизацию и отсутствие костной мозоли до 12 недель после операции [69]. De Mello и Pagnoncelli (2008) сравнивают процессы регенерации костной ткани после воздействия, выполненным с помощью Er: YAG лазера и с помощью сверления бором на низких скоростях. Было показано, что через 21 день гистологическая картина двух групп была очень похожа, хотя измененный слой все еще можно было наблюдать после воздействия Er: YAG-лазером [46].

Некоторые исследования [14; 47; 57; 133; 135; 176] показывают, что костная ткань может успешно восстанавливаться после лечения эрбиевым лазером.

Излучение эрбиевого лазера чрезвычайно эффективно поглощается тканями. В исследовании Pourzarandian и Watanabe (2003) показывают, что воздействие Er: YAG-лазером на костную ткань крыс влияло на начальные процессы заживления более быстрыми темпами, чем воздействие CO₂-лазером [47]. Wang (2005) исследует регенераторные процессы, происходящие в костной и мягких тканях верхней и нижней челюсти после перфорации лазером Er, Cr: YSGG-laser ($\lambda=2,78$ мкм). Челюсти новозеландских белых кроликов были облучены Er, Cr: YSGG-лазером, были созданы отверстия диаметром 0,4 мм. Параметры облучения были следующими: частота импульсов 20 имп/с,

длительность импульса 140-200 мс, мощность 2 Вт, время экспозиции 10 с, энергия 80 Дж/см². После выведения животных из исследования на протяжении 56 дней после операции были выполнены наблюдения и проведено гистологическое исследование. Эффективный гемостаз был достигнут после использования Er, Cr: YSGG-лазера во время хирургической процедуры. Наблюдалась минимальная задержка перед началом заживления. Через 56 дней все дефекты были полностью восполнены новой костной тканью [176].

Протокол регенерации тканей пародонта Er, Cr: YSGG лазером описан в исследовании D. Perio (2013), в котором сообщается об уменьшении глубины пародонтального кармана и регенерации костной ткани при использовании Er, Cr: YSGG лазерной мини инвазивной хирургической процедуры. В то же время авторы отмечают, что необходимы дальнейшие исследования для проверки данной гипотезы в рамках независимых клинических испытаний [133]. Этот протокол был аналогичен описанному в исследовании B. Dyer (2012) [57]. Kesler et al. (2011) продемонстрировали, что излучение эрбиевого лазера с длиной волны 2940 нм на дефекты костной ткани у крыс, по-видимому, стимулирует секрецию факторов роста. Возможно, что высокие уровни факторов роста костной ткани являются частью механизма, который стимулируется воздействием эрбиевого лазера и улучшается заживление дефектов [135].

Возможность создания абляционных микроколонн в костной ткани челюстей свиньи через слизистую оболочку десны с помощью эрбиевого лазера с длиной волны 2940 нм *ex vivo* впервые была продемонстрирована в статье Karabut (2013) [104]. В исследовании отмечается, что лазерные микроколонны в костной ткани имеют диаметр 50-250 мкм и глубину 1 мм, а ширина повреждения вокруг микроколонн не превышает 50 мкм, что позволяет ожидать успешную регенерацию кости после лазерной процедуры.

В 2004 г. Manstein et al. в своей статье сформулировали новую методику фракционной лазерной микрокоагуляции [113]. Ее основная суть лежит в создании не связанных друг с другом колонн термического повреждения ткани фиксированного значения по диаметру, которые окружены жизнеспособной

тканью. За счет сохранения данных участков ткани происходит более быстрая эпителизация поврежденной ткани. Это сильно сокращает послеоперационный период заживления для пациентов [177].

Первым подобным устройством, выполняющем фракционную лазерную микрокоагуляцию, был лазер Fraxel 750 (Reliant Technologies), который являлся разновидностью эрбиевого лазера с длиной волны 1550 нм с волоконным элементом [26].

Механизм фракционной лазерной микрокоагуляции заключается в нанесении микроскопических пучков точечного, сильно сфокусированного излучения, которые образуют тонкие, не соединенные друг с другом колонны повреждения в ткани [169]. Не смотря на подробное описание эффектов данной методики, ее точный механизм заживления, который позволяет тканям полностью восстановиться без процесса рубцевания и других побочных эффектов, не изучен до конца [85].

Helbig et al. (2011) показали, при лазерном воздействии на эпидермис и дерму, при условии что происходит контролируемый нагрев тканей, происходит стимуляция регенерации кожи и активация коллагена [81]. Доказано, что основным механизмом омоложения кожи за счет лазерного излучения является неоколлагенез, который значительно влияет на уплотнение кожи.

Многими авторами подробно изучен данный процесс, происходящий в коже под влиянием лазерного воздействия, при котором после термического действия на ткань происходит активация белков теплового шока. По мнению Ravanti et al. (2000) в связи с этим процессом происходят изменения в регуляции трансформирующего фактора роста β , матричных металлопротеиназ, гиалуронатсинтетазы, гиалуронидазы и гиалуроновой кислоты [32; 80; 143].

Atalay et al. (2009) описывают белки теплового шока, как стрессовые молекулы, активация которых идет во всех клетках и тканях при всех видах физических воздействий, в том числе и термическом. Они влияют на способность клеток справляться с накопленными поврежденными молекулами, а также участвуют в синтезе новых белков для возмещения поврежденных. Таким

образом, белки теплового шока участвуют в базовых процессах регенерации и заживления ран [34]. Laubach et al. (2006) доказали, что лазерное излучение влияет на экспрессию белка HSP70 в эпидермисе вокруг колонн термического повреждения уже через 2 часа после воздействия, а также косвенно в структурах дермы, в зонах прохождения капилляров, волосяных фолликулов и сальных желез [105].

Kurkinen et al. (1980) доказано, что при первичном заживлении раны в основном превалирует коллаген III типа [99]. В процессе созревания ткани начинает преобладать коллаген I типа, а количество коллагена III типа начинает плавно снижаться. Также в некоторых исследованиях показано, что за счет экспрессии других белков, которые отвечают за синтез и транспорт проколлагена I, происходит активное накопление коллагена I и III типов уже через неделю после фракционного лазерного микрокоагуляции и уровень сохраняется на необходимом значении до 3 месяцев [81; 108]. В исследовании Helbig et al. (2011) показано, что через 2 недели происходит практически полное заполнение поврежденных лазером зон вновь образованным коллагеном III [81].

В исследовании Arany et al. (2007) доказана индукция факторов роста TGF- β при разных видах фракционного лазерного воздействия в первые 2 недели после облучения [32]. Данные факторы роста выполняют крайне важные функции, например, способствуют синтезу фибронектина и коллагена в матриксе, трансформации миофибробластов, ангиогенезу и реакции теплового шока [98].

При гистологическом анализе кожи после фракционной лазерной микрокоагуляции отмечается асептический тканей сразу после обработки. Tierney et al. (2009) отмечают быструю регенерацию в первые сутки за счет транспорта кератиноцитов и перемещению поврежденных эпидермальных клеток на периферию зоны лазерного повреждения. Также почти сразу после лазерного излучения в зоне сформированных микрокоагуляционных колонн наблюдаются морфологические изменения клеток базального слоя, в связи с их переходом в мигрирующие клетки и способностью перемещаться к зоне воздействия и стимулировать быстрое восстановление и регенерацию [113; 169].

Данная технология хорошо изучена в рамках дерматологии, однако в литературных источниках мало освещена возможность получения таких же положительных эффектов со стороны мягких тканей полости рта. В целом применение низкоинтенсивных диодных лазеров до сих пор имеет очень противоречивые результаты.

Еще в 2009 году AboElsaad и Soory отметили, что применение диодного лазера с длиной волны 830 нм на мягкие ткани полости рта оказывает через 3 месяца после терапии статистически значимую разницу по сравнению с контрольной группой без лазерного воздействия [61]. Однако через 6 месяцев после лазерной обработки разницы с контрольной группой уже не наблюдалось. Исследование Abolfazli и Sadighi (2012) с использованием такого же типа лазера показало, что терапия положительно влияет на глубину зондирования в области зубов, однако не оказывает значительного эффекта на уровень десневого края и восстановление альвеолярного гребня [22].

Диодные лазеры также могут оказывать влияние на заживление при проведении оперативных вмешательств на мягких тканях полости рта. В 2009 г. Almeida et al. изучили воздействие диодных лазеров с длинами волн 660 и 780 нм на регенерацию мягких тканей после проведения пересадки свободных десневых трансплантатов [172]. Результаты исследования являлось, что низкоинтенсивная лазерная терапия не улучшила регенерацию свободных десневых трансплантатов и не влияло на послеоперационную болезненность пациентов. Исследование других авторов Vieira и Lopes (2010) имело иной результат при применении лазера с длиной волны 650 нм у пациентов с недостаточным объемом прикрепленной кератинизированной десны [45]. Обнаружены достоверные различия в послеоперационной болезненности у пациентов, которым применяла лазерная терапия в первые дни после вмешательства по сравнению с контрольной группой. А также показано улучшение регенерации десны у 80% пациентов с лазерной терапией через 14 дней после операции.

В исследовании Moslemi и Heidari (2014) изучали влияние лазерной терапии с длиной волны 660 нм на эпителизацию и заживления донорской зоны после забора трансплантата [74]. В группе с лазерной обработкой обнаружен более значительный положительный эффект на заживление и эпителизацию донорской зоны через 14 дней после операции по сравнению с группой без лазерной терапии.

Схожие результаты были получены в 2017 году Ustaoglu и Ergun при применении диодного лазера с длиной волны 940 нм [171]. Полная эпителизация донорской зоны наблюдалась на 14 сутки после забора тканей больше в группе с лазерной обработкой, а также в целом улучшается регенерация и толщина тканей в палатинальной зоне.

1.5 Лазерное структурирование поверхности дентального имплантата

Структура поверхности дентальных имплантатов, а именно их макро и микродизайн являются одними из наиболее важных факторов, влияющих на процесс остеоинтеграции [25; 127].

Puleo и Nanci (1999) подтвердили, что структура поверхности, а также макро- и микродизайн имплантата оказывают существенное влияние на эффективное взаимодействие костной ткани и поверхности имплантата [136]. Было продемонстрировано, что в зависимости от применяемого метода обработки поверхности могут значительно отличаться результаты остеоинтеграции, так как происходит влияние и на скорость интеграции клеток костной ткани на поверхность имплантата [58; 140].

В качестве материала для создания дентальных имплантатов наиболее часто применяются титановые сплавы, которые обладают высокими прочностными и коррозионными характеристиками, а также гипоаллергенности самого титана [43]. Более того, титан является таким материалом, который способен образовывать

устойчивую плотную оксидную пленку на своей поверхности, что повышает совместимость дентального имплантата с организмом [37].

Соопер (2000) приводит следующую классификацию дентальных имплантатов с точки зрения структуры их поверхности: «гладкие», т.е. не обработанные и «шероховатые», которые возможно получить с помощью методов фрезерования, пескоструйной обработки, а также кислотного протравливания [49]. Обычно различие между гладкой и шероховатой поверхностью можно оценить за счет важного показателя глубины шероховатости [49]. Во многих исследованиях однозначно доказано, что структурированные имплантаты, т.е. шероховатые, лучше интегрируются в костной ткани, по причине увеличения общей площади поверхности сцепления, чем полированные имплантаты без обработки [62; 77; 78].

Также в научном сообществе пока что нет однозначного мнения о том, какой вид структурированной поверхности является наиболее оптимальным для дентального имплантата [27].

Некоторые авторы предположили, что на клетки костной ткани, по-видимому, больше влияет микродизайн поверхности, чем степень ее шероховатость [31]. Perrotti и Palmieri (2013) предположили, что наилучшие результаты с точки зрения остеоинтеграции можно достичь при использовании поверхности с однородной структурой по сравнению с хаотичной поверхностью, которая содержит пики и впадины [77]. Эти данные были подтверждены и другими исследованиями, которые показали, что клетки костной ткани, имеют особый «интерес» к поверхностям с однородной и равномерной структурой [62].

Поэтому нерешенным остается вопрос о том, какой именно тип микрорельефа (упорядоченный или хаотичный) будет наиболее биосовместимым и привлекательным для клеток костной ткани.

На сегодняшний день одним из наиболее популярных методов структурирования имплантатов является пескоструйная обработка [144]. Суть метода заключается в создании достаточно хаотичного микрорельефа путем попадания на поверхность имплантата специального порошка под давлением.

Для этого обычно используют порошки гидроксиапатита, оксида алюминия и прочие. После пескоструйной обработки в основном следует этап кислотного протравливания обработанной поверхности для удаления остатков порошка [163]. Поэтому данный метод структурирования или их совокупность не исключают остаточные загрязнения на поверхности обработанного имплантата, а также не позволяют получить не загрязненную поверхность за один технологический этап.

Недавно швейцарская компания Nobel Biocare представила новый дизайн поверхности имплантата Ti Ultra, который показал более высокие цифры остеоинтеграции по сравнению с популярной в последние десятилетия поверхностью Ti Unite [21; 25; 72; 129; 146]. Улучшение параметра остеоинтеграции произошло за счет формирования зон с различной морфологией: шейка имплантата с нанопористым гладким оксидным покрытием, а переходная зона трансформируется от вершины имплантата к кончику по степени шероховатости и толщине оксидного слоя [91; 137; 142]. Как отмечают авторы, оксидный слой на поверхности шейки имплантата обеспечивает дополнительные бактерицидные свойства имплантату в период его заживления и интеграции в костной ткани. Регулирование величины шероховатости и размера пор осуществляется путем точной настройки режимов анодирования, подбора специального режима тока и необходимого раствора электролита. Также важно отметить тот факт, что часто в процессе анодирования используются сильные кислоты, например, серная, фосфорная, азотная кислоты, которые могут оставаться в структуре на поверхности даже после стерилизации имплантата, поэтому это может отрицательно сказаться на процессе остеоинтеграции [161]. В исследовании Milleret и Bauer (2019) замечено, что на анодированном имплантате, выпущенным компанией Nobel Biocare, наблюдается содержание фосфора, что подтверждает использование сильной фосфорсодержащей кислоты в качестве электролита в процессе обработки поверхности [137].

Описанные методы обработки поверхности неизбежно создают структуру с неравномерным рисунком, а также могут оставаться некоторые остаточные

загрязнения на поверхности даже после процесса стерилизации, а также данные методы являются многоэтапными [148; 154].

Для того чтобы в должной мере оценить эффективность и безопасность установленных дентальных имплантатов необходимо провести всесторонний гистологический анализ для изучения взаимоотношений между дентальным имплантатом и окружающей костной тканью. Благодаря исследованию границы имплантат-костная ткань имеется возможность разработки оптимальных материалов и новых вариантов микродизайна поверхности имплантатов. Однако изучение взаимодействия костной ткани и дентального имплантата достаточно сложный процесс и имеет определенную специфику.

Рядом авторов давно доказано, что необходимо применять специальные методы гистологической подготовки препаратов не декальцинированной костной ткани, так как образец содержит в себе одновременно «не живой» титановый компонент и «живую» окружающую его костную ткань [5; 13; 17]. Стандартные методы подготовки декальцинированной костной ткани и заливки ее в поливакс не позволят выполнить тонкие гистологические срезы, содержащие в своем составе металлический элемент. Для этого после этапа дегидратации препарат пропитывают в специализированных пластмассах и синтетических смолах по определенному протоколу [119; 128]. Данная подготовка препаратов позволяет получить тонкие гистологические срезы толщиной от 10 до 40 мкм [79].

По данным Американской ассоциации исследователей костной и минеральных тканей (The American Society for Bone and Mineral Research) для оценки остеоинтеграции дентальных имплантатов нужно использовать ряд важных параметров [130; 158]. В основном в исследованиях используется опыт проф. Бранемарка и определяется основной показатель взаимодействия BIC-индекс (bone implant contact) – контакт наружной поверхности имплантата с костной тканью [83]. Данный показатель крайне вариабелен и зависит от исходного состояния и качества костной ткани, сроков после операции по установке имплантата, вида нагрузки на имплантат. Данный индекс не может дифференцировать костную ткань по зрелости и сроку образования. Важно

отметить, что в процессе остеоинтеграции имплантат может контактировать не только с костной тканью, но и с фиброзной тканью, воспалительными и грануляционными тканями. При наличии в исследованиях сравнительной оценки эффективности различных поверхностей имплантатов необходимо дополнительно изучать такие параметры, как площадь поверхности, занимаемая остеоидом, и площадь поверхности, занимаемая клетками остеобластического ряда. Также рекомендуется проводить анализ иных клеточных элементов на поверхности имплантата [83].

Лазерное структурирование дентальных имплантатов представляет собой инновационный метод обработки поверхности, позволяющий получить однородную и не загрязненную структуру всего за один технологический этап [71]. Суть данной обработки заключается в использовании высокой энергии воздействия за счет фокусировки лазерного луча для плавления, нагрева и модификации поверхностных слоев титана. Лазерное структурирование позволяет установить индивидуальные параметры для создания необходимой глубины шероховатости поверхности для получения различной пористости по форме, диаметру и глубине.

Обработка с помощью лазера также является эффективным методом для получения не загрязненной поверхности, поскольку во время структурирования не требуются кислоты или порошок для пескоструйной обработки [162]. Остаточные загрязнения, которые могут оставаться на поверхности имплантата после других методов обработки при использовании кислот или металлов, могут влиять на успех остеоинтеграции [150].

Также интересен факт того, что в некоторых исследованиях на животных при проведении теста на выкручивание для оценки остеоинтеграции были получены более высокие цифры в группе структурированных лазером имплантатов, по сравнению с имплантатами после пескоструйной обработки [29; 54].

Одной из первых компаний по производству дентальных имплантатов, которая представила рынку возможность структурирования поверхности лазером,

стала CSM (Ю. Корея). В результате излучения специального твердотельного YAG лазера возможно создавать упорядоченный микродизайн в виде «канавок» и «лунок», при этом не включать в процесс производства химические компоненты и выполнять весь цикл за один технологический этап. Данные имплантаты показывают высокие цифры параметров остеоинтеграции и долгосрочную функциональную стабильность [106]. Также в исследовании Veiko (2018) показано, что структуры поверхности имплантатов, обработанные лазерным излучением на воздухе, обладают хорошей износостойкостью за счет содержания оксинитридов титана [173].

Поэтому можно сделать вывод, что методы на основе лазерного структурирования очень перспективны для создания биосовместимой поверхности имплантата. Неоспоримым преимуществом лазерной обработки также является то, что структура поверхности формируется за счет испарения самого титана, без использования дополнительных материалов для обработки, таких как частицы оксида алюминия, и сильных кислот, например, хлорной и серной кислот, что снижает риск дезинтеграции имплантата из-за остаточных загрязнений. Помимо этого, лазерное структурирование открывает большие возможности для изучения и создания сложных морфологий поверхности с заданным химическим составом.

Также нерешенным остается вопрос о том, какой именно тип упорядоченного микрорельефа, который можно создать благодаря лазерному воздействию, будет наиболее привлекательным для клеток костной ткани.

Большой интерес представляет тип рельефа в виде параллельных канавок. По сравнению с неупорядоченным рельефом, который получается при пескоструйной обработке, поверхность с параллельными канавками оказывает влияние на поведение клеток таким образом, что последние сцепляются и синтезируются на поверхности не хаотично, а выстраиваются вдоль данных канавок [126; 139; 182]. Важными параметрами при создании такого рельефа являются ширина, глубина и периодичность канавок [76]. От соотношения этих величин зависит может ли данный микродизайн поверхности оказывать

положительное влияние на поведение клеток. Если ширина канавок в разы меньше или больше размера клеток, а глубина составляет менее 5 мкм, то будут работать другие механизмы взаимодействия. Тогда поведение клеток в значительной степени зависит от наноразмерных структур, в частности от их ориентации в пространстве. Помимо этого, наноразмерные структуры оказывают влияние на адгезию белков к поверхности имплантата на ранних стадиях остеоинтеграции [97; 125], а от этого напрямую зависит конечное формирование костной ткани на поверхности имплантата.

Таким образом, лазерные технологии могут способствовать регенеративным процессам твердых и мягких тканей полости рта, а также являются инновационным методом структурирования дентальных имплантатов, обеспечивающим сокращение технологических этапов производства и создание уникального микродизайна поверхности.

Глава 2

ЛАЗЕРНАЯ БИОМОДИФИКАЦИЯ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ

2.1 Материал и методы исследования

Для изучения регенеративных процессов в костной ткани в ответ на лазерное воздействие было выполнено экспериментальное исследование на лабораторных животных (получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол № 05/19-н от 28.01.2019). Исследование было выполнено на базе вивария ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России при участии ООО НТО «ИРЭ-Полюс».

Объектом исследования были выбраны кролики самцы породы «Советская Шиншилла», возрастом 1 год, весом от 2,5-3 кг. Всего принимало участие 10 лабораторных животных.

Кролики были разделены на 2 группы (по 5 животных в каждой) и выводились из эксперимента (по стандартам GLP) на сроках в 21 и 45 дней после оперативного вмешательства для проведения рентгенологического, гистологического и гистоморфометрического исследований.

2.1.1 Выбор диодных лазеров для воздействия на костную ткань лабораторных животных (980 нм и 1550 нм)

Лазерное воздействие выполнялось 2 различными диодными лазерами с длинами волн 980 нм и 1550 нм. В качестве лазера с длиной волны 980 нм был применен FonaLaser, Sirona Dental Systems, Германия (рисунок 1).



Рисунок 1 – FonaLaser, Sirona Dental Systems, Германия

Общие характеристики лазерного аппарата представлены следующими параметрами – длина волны – 970 ± 15 нм, максимальная мощность пиковых импульсов – 0,5-7 Вт, частота – 1-100 Гц, коэффициент заполнения – 50% в прерывистом режиме (различный в пиковом импульсном режиме) и несколько вариантов рабочих режимов (непрерывный, прерывистый, пиковый импульсный).

Для выполнения исследования на костной ткани с использованием данного лазера был выбран режим со следующими параметрами – длина волны 980 нм, мощностью 5 Вт, пиковый импульсный рабочий режим.

В качестве лазера с длиной волны 1550 нм был применен аппарат лазерный хирургический одноволновый ЛСП «ИРЭ-Полюс», НТО «ИРЭ-Полюс», г. Фрязино, Россия (рисунок 2) (Регистрационное удостоверение № РЗН 2013/850).

Общие характеристики лазерного аппарата представлены следующими параметрами – длина волны основного рабочего излучения – $1,94 \pm 0,04$ мкм, длина волны дополнительного рабочего излучения – $1,55 \pm 0,01$ мкм, максимальная мощность для 1,94 мкм – 120 Вт, максимальная мощность для 1,55 мкм – 15 Вт, длина волны пилотного лазера – 0,53 мкм, несколько режимов работы основного излучения (непрерывный, импульсно-периодический), максимальная частота

повторения импульсов – не менее 2200 Гц, энергия импульса – 0,03 Дж, диаметр световода 200-1000 мкм, воздушное охлаждение аппарата, напряжение и ток питания 220 ± 10 В, частота сети 50-60 Гц.



- 1 – ручки регулировки выходной мощности рабочих излучений;
 2 – ручка регулировки мощности лазера наведения; 3 – сенсорный дисплей типа (тач-скрин);
 4 – замок выключатель; 5 – кнопка аварийного выключения аппарата.

Рисунок 2 – Схематическое изображение аппарата лазерного хирургического одноволнового ЛСП «ИРЭ-Полус», НТО «ИРЭ-Полус», г. Фрязино, Россия

Для выполнения терапии на костной ткани с использованием данного лазера был выбран режим со следующими параметрами – длина волны 1550 нм, мощность 25 Вт и длительность импульса в диапазоне от 60 до 250 мс. Мощность основного режима лазерного аппарата составляет 3 Гц.

Аппарат выполнен на базе лазерного модуля, генерирующего непрерывное, импульсное или импульсно-периодическое лазерное излучение (рисунок 3).

Лазерное излучение поступает в наконечник по оптоволоконному кабелю. Для создания лазерных колонок наконечник прикладывается непосредственно к ткани и нажатием педали подается излучение (рисунок 4).

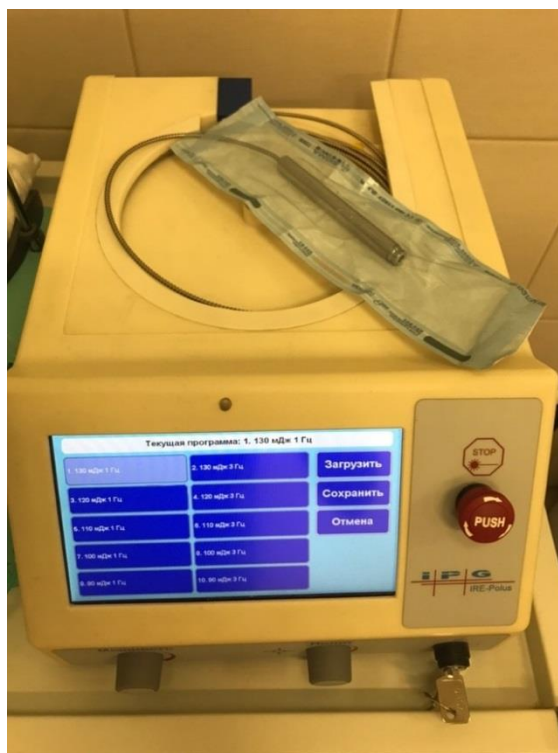


Рисунок 3 – Готовый к применению аппарат лазерный хирургический
одноволновой с рабочим наконечником ЛСП «ИРЭ-Полюс»,
НТО «ИРЭ-Полюс», г. Фрязино, Россия



Рисунок 4 – Наконечник лазерного аппарата со съемной насадкой. Насадки
на лазерный наконечник многоразовые, подвергаются автоклавированию

Воздействие на биоткань при работе осуществляется при контакте рабочего
конца волоконного инструмента с биотканью.

2.1.2 Методика оперативного вмешательства

Оперативное вмешательство проводилось в условиях операционной лаборатории инвазивных технологий научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России.

До проведения хирургического этапа была подробно изучена анатомия черепа кроликов участниками исследования. Также для более точной отработки мануальных навыков и планирования шагов предстоящей процедуры была использована модель (голова фермерского кролика). Всеми участниками исследования были пройдены этапы предстоящей процедуры на модели для сокращения операционного времени.

Для проведения лазерных воздействий были выбраны теменные кости кроликов. Данная зона является одной из наиболее доступных и изученных областей для осуществления лазерной терапии на лабораторных животных. Предшествующие пилотные исследования показали, что эта зона быстро поддается заживлению и не причиняет сильного дискомфорта животным в послеоперационном периоде.

Теменные кости лабораторных животных были условно разделены на 3 зоны. В первой зоне воздействия осуществлялись через надкостницу на костную ткань, во второй зоне – на костную ткань после отслоения надкостницы, в третьей зоне – были произведены дефекты шаровидным бором, один из дефектов подвергался лазерной обработке, другой нет.

С левой стороны производилась лазерная обработка диодным лазером с длиной волны 980 нм, с правой стороны – диодным лазером с длиной волны 1550 нм; границей между левой и правой стороной являлся костный сагиттальный шов (рисунок 5).

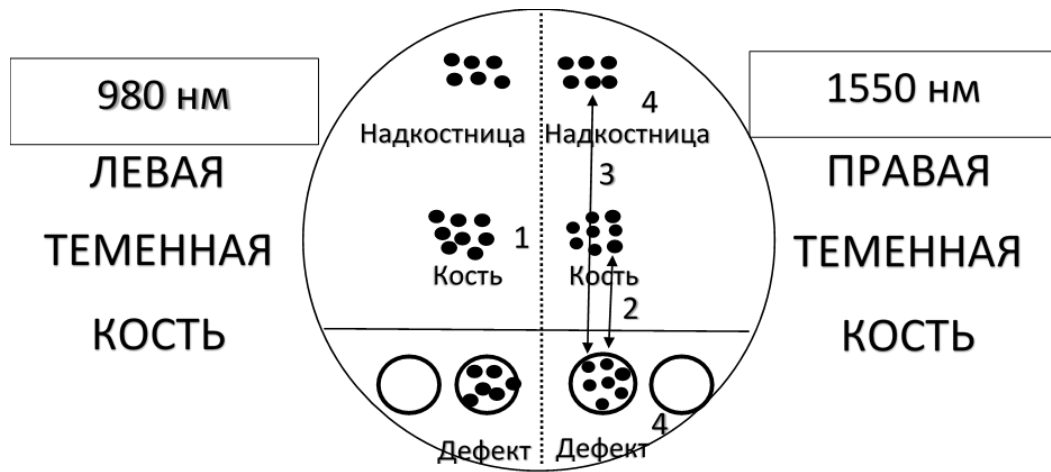


Рисунок 5 – Схема эксперимента

Во время оперативного вмешательства осуществлялся подробный фотопротокол (фотоаппарат Canon 500d) и измерения по схеме для последующего корректного нахождения зон лазерной обработки для проведения рентгенологического и гистологического этапов. Замеры проводились в следующих зонах:

1. Расстояние от срединного шва до зоны лазерной обработки.
2. Расстояние от дефекта до лазерной обработки по костной ткани.
3. Расстояние от дефекта до лазерной обработки по надкостнице.
4. Ширина лазерной обработки.

Для проведения хирургической процедуры животных сначала подготавливали к премедикации (атропин п/к за 10-15 минут в дозировке 0,1 мг/кг), далее проводили премедикацию препаратом рометар («Ксила») подкожно или внутримышечно в дозе 4 мг/кг, кетамин внутримышечно в дозе 10-15 мг/кг и дроперидол 0,25% р-р подкожно или внутримышечно в дозе 2,5 мг/кг. Через 10-15 минут в ушную вену устанавливался внутривенный катетер размером 23 G для проведения внутривенного обезболивания. Далее производилось разведение в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия кетамина 50 мг, дроперидола 2,5 мг и ксилазина гидрохлорида 20 мг. Препараты необходимо вводить медленно до исчезновения ресничного, роговичного и pedalного рефлексов.

Первым этапом было произведено бритье операционного поля. Далее производилась медикаментозная обработка операционного поля (р-р октенисепт), была сделана инфильтрационная анестезия раствором лидокаина 2% 2 мл.

Во время основной хирургической процедуры всем животным производился сагиттальный разрез на черепе длиной 5 см, была разведена кожа и подкожно-жировая клетчатка (рисунок 6).



Рисунок 6 – Разрез кожи и подкожно-жировой клетчатки длиной 5 см

Далее визуализировалась теменная кость и условно производилось деление ее на 3 зоны. В первой зоне (ближе к лобной кости) у всех животных надкостница сохранялась и не отслаивалась. Во второй зоне отслаивалась надкостница и была экспонирована кость, в третьей зоне надкостница также отслаивалась и формировались небольшие дефекты (диаметром 3-5 мм и глубиной 2 мм) шаровидным бором с использованием прямого наконечника с водяным охлаждением физиологическим раствором 0,9% натрия хлорида. Глубина дефекта была подобрана таким образом, чтобы не затрагивалась внутренняя кортикальная пластинка и мягкая мозговая оболочка соответственно. С каждой стороны от срединного теменного шва было выполнено по 2 дефекта: на медиальных производилась лазерная обработка, на латеральных не производилось никаких действий (рисунок 7).



Рисунок 7 – Отслоена надкостница, за исключением зоны 1.
Сформированы дефекты трепаном диаметром 3-5 мм в зоне 3

Затем производилась лазерная обработка по описанной схеме. На левой теменной кости был применен диодный лазер с длиной волны 980 нм (рисунок 8).

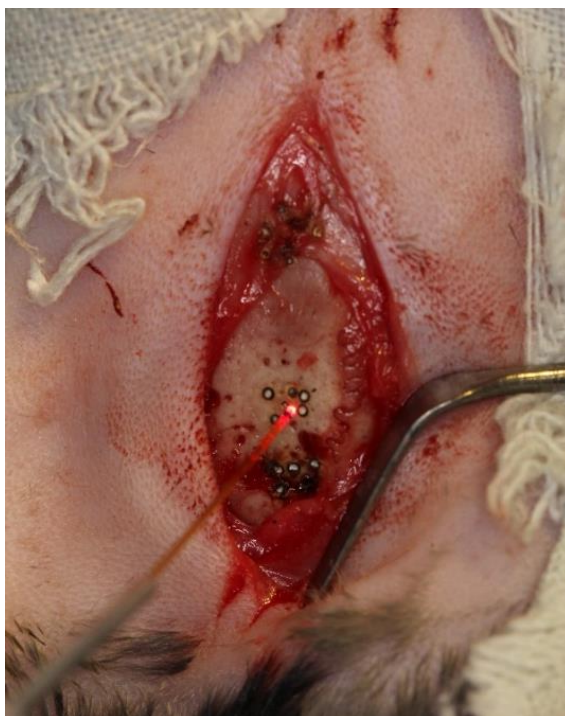


Рисунок 8 – Обработка левой теменной кости диодным лазером
с длиной волны 980 нм

На правой теменной кости был применен диодный лазер с длиной волны 1550 нм. Наконечник должен быть в обязательном соприкосновении с костной тканью (рисунок 9).



Рисунок 9 – Обработка зоны 3 на правой теменной кости диодным лазером с длиной волны 1550 нм

Произведена лазерная обработка на зону 2, где производилось отслоение надкостницы. Количество лазерных колонн (воздействий) в каждой зоне было в количестве 15-20 штук (рисунок 10).

Далее производилось послойное наложение швов на ткани. В качестве шовного материала был выбран рассасывающийся ПГА 5,0 (рисунок 11).

После операции все животные проходили общую проверку состояния жизненно важных функций, были наложены согревающие грелки. Кролики наблюдались до появления всех рефлексов. После того, как животные занимали свое естественное анатомическое положение в пространстве (лежит на лапах, держит голову), они были перенесены в клетки постоянного содержания в виварии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова.



Рисунок 10 – Обработка зоны 2 на правой теменной кости диодным лазером с длиной волны 1550 нм



Рисунок 11 – Послойное наложение рассасывающихся швов

В раннем послеоперационном периоде всем экспериментальным животным проводилась антибактериальная терапия гентамицина сульфатом 4% в течение 7 дней (2 мл 1 раз в сутки). После операции лабораторные животные находились в изолированных клетках, содержащие кормушки и поилки. Ежедневно животные, исходя из среднего веса, должны получать по 150 г комбикорма для взрослых лабораторных кроликов и 300 г овощей, таких как капуста и морковь. Снижения активности животных и массы их тела при ежедневном взвешивании не было.

Послеоперационный период у всех животных протекал без особенностей. За весь период наблюдения значимых не желательных явлений или смерти животных зарегистрировано не было.

Эвтаназия выполнялась путем внутривенного введения раствора пентобарбитала натрия в дозировке 200 мг на 1 кг массы тела животного. После этого выполнялась декапитация кроликов для удобства проведения этапа компьютерной томографии (рисунок 12).

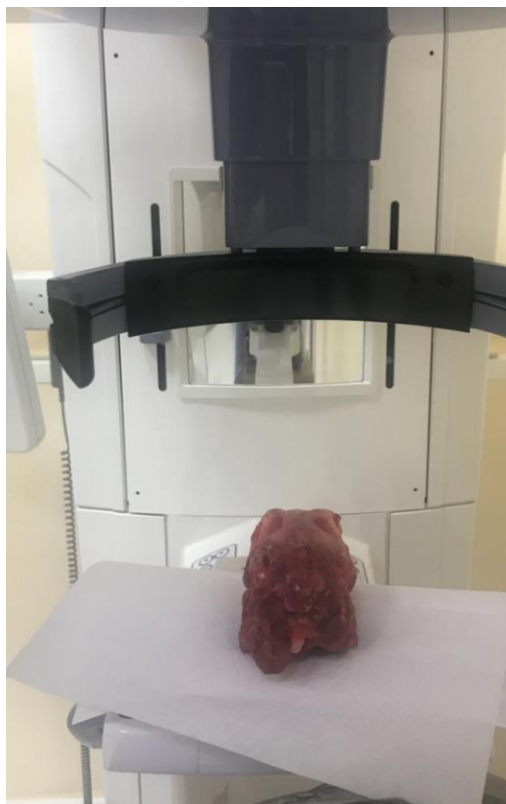


Рисунок 12 – Позиционирование головы кролика
в аппарате для выполнения компьютерной томографии

Конусно-лучевая компьютерная томография выполнялась на базе Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Стоматологическая поликлиника № 9» с помощью аппарата Orthopantomograph OP 300, Kavo, Финляндия. Параметры томографической съемки: 90 кВ, 3.2-16 мА, 35 кДж, размер изотропного вокселя 125 мкм, эффективная доза 70 мкЗв, область обзора 50×50 мм. Вычислительный анализ дигитальных КТ-изображений проводился по стандартизированному протоколу (негативное изображение, изучение тканевой картины на экране монитора в трех проекциях-аксиальной, фронтальной, сагиттальной).

Далее с помощью бормашины теменные кости были сепарированы и получены фрагменты костной ткани каждой зоны лазерной обработки, размером 1,0×1,0 см (рисунок 13).



Рисунок 13 – Сепарирование теменных костей и получение фрагментов
для гистологического исследования

Препараты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 48 часов и отправляли в ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России. Далее препараты костной ткани декальцинировали раствором Трилона Б

в концентрации 25 ммоль/дм³ на протяжении 3-4 недель. После декальцинации препараты промывали проточной водой в течение суток, обезвоживали и заливали в блоки с парафином. Получали срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

С помощью светового микроскопа Leica DME на увеличении $\times 200$ проводился анализ изменений в костной ткани при наличии надкостницы, после удаления надкостницы и при создании дефекта.

При проведении гистологического исследования производилась оценка степени повреждения кости, надкостницы и костного мозга, а также способность костной ткани регенерировать после воздействия лазера. Произведено гистологическое и гистоморфологическое исследование препаратов.

Фотографии получали на световом микроскопе Leica DME (Германия), съемка и оцифровка полученных фотографий производилась на камере Leica EC 3.

2.2 Результаты рентгенологического исследования

Сразу после выведения лабораторных животных из эксперимента выполнялась конусно-лучевая компьютерная томография. Совместно с врачом-рентгенологом производился анализ и описание данных компьютерной томографии, с целью выявления количественных изменений костной ткани теменной области в ответ на проведенное лазерное воздействие.

Выполнение данного вида исследования у всех 10 животных не показало различий от нормальной анатомии черепа кроликов, не было выявлено изменений в архитектонике и структуре костной ткани в зоне проведения лазерного воздействия (рисунок 14).

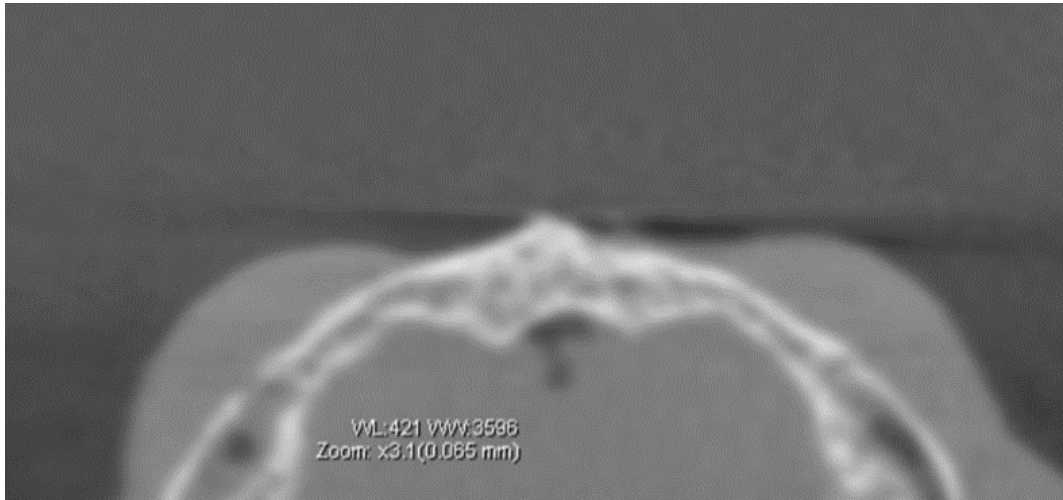


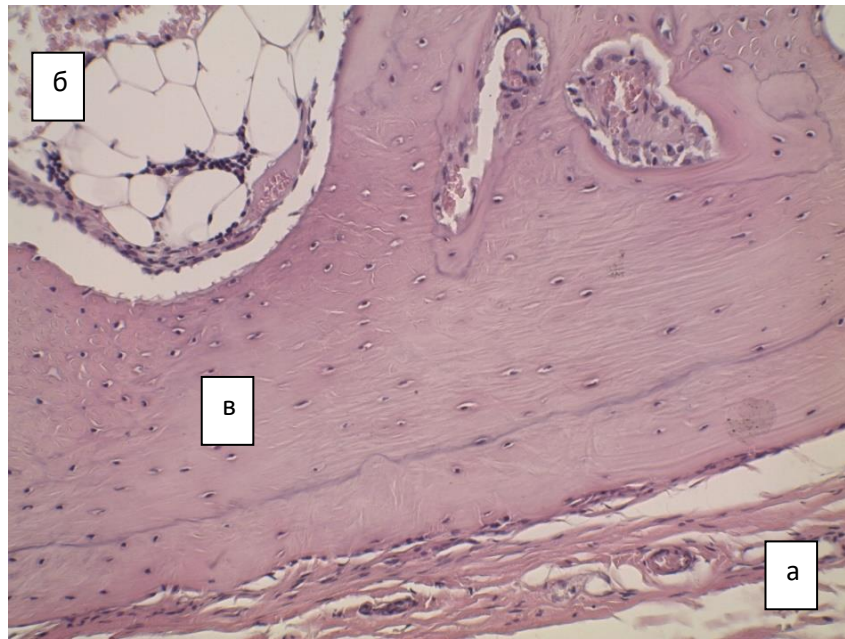
Рисунок 14 – Сагиттальный срез теменной кости
на конусно-лучевой компьютерной томографии

Вероятнее всего это связано с минимальным объемом изменений при воздействии лазером, которые носят больше не количественный, а качественный характер.

2.3 Результаты гистологического исследования

Для выявления и оценки качественных изменений костной ткани после лазерного воздействия было выполнено гистологическое исследование на базе ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России.

Кости черепа, в том числе и теменная, имеют особую структуру, называемую «diploe», представленную наружной и внутренней кортикальными костными пластинками, образованными зрелой пластинчатой костью и покрытыми тонкой надкостницей. Кортикальные пластинки соединены губчатой костью, между балками которой располагается кровеносный и жировой костный мозг в разных соотношениях (рисунок 15).



а – наружная кортикальная пластинка, покрытая надкостницей;
 б – волокнистый и клеточный слой; в – остециты.

Рисунок 15 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Нормальная анатомия теменной кости

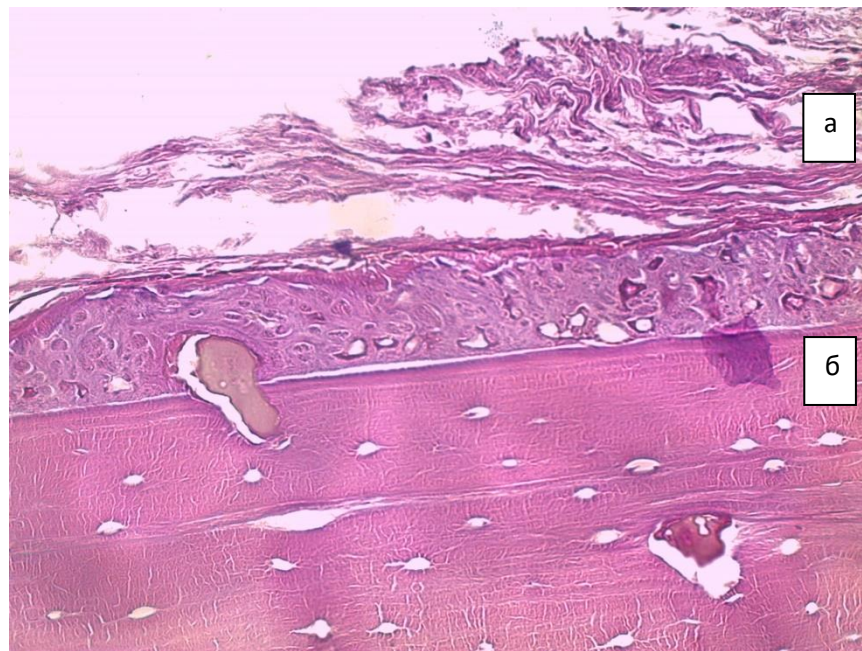
В ходе анализа проводилась сравнительная оценка нормальной морфологической структуры теменной кости кроликов (контроль) и морфологическая структура костной ткани после лазерной модификации длиной волны 980 нм и 1550 нм.

2.3.1 Гистологическое исследование костной ткани при воздействии лазера с длиной волны 980 нм

2.3.1.1 Оценка гистологической структуры костной ткани теменной кости кроликов в зоне с сохраненной надкостницей (зона 1)

После воздействия лазера с длиной волны 980 нм через 21 день в зоне с сохраненной надкостницей она приобретала гомогенную малоклеточную

структуру в очагах воздействия, разволокнялась. К костной ткани прилежали гомогенные массы с запустевшими сосудами, что отражало прошедшее асептическое воспаление в ответ на повреждение. В наружной кортикальной пластинке были заметны пустые клеточные лакуны и пикноз ядер остеоцитов, как проявление повреждающего действия лазера (рисунок 16).



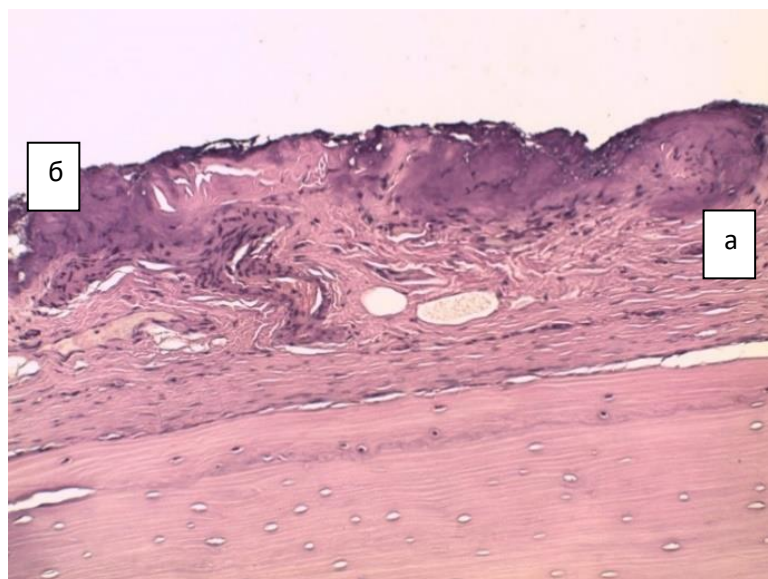
а – кортикальная пластинка покрыта разволокненной надкостницей;

б – гомогенная малоклеточной волокнистой тканью с запустевшими мелкими сосудами.

Рисунок 16 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$. Фрагмент кортикальной пластинки через 21 день после воздействия лазера с длиной волны 980 нм

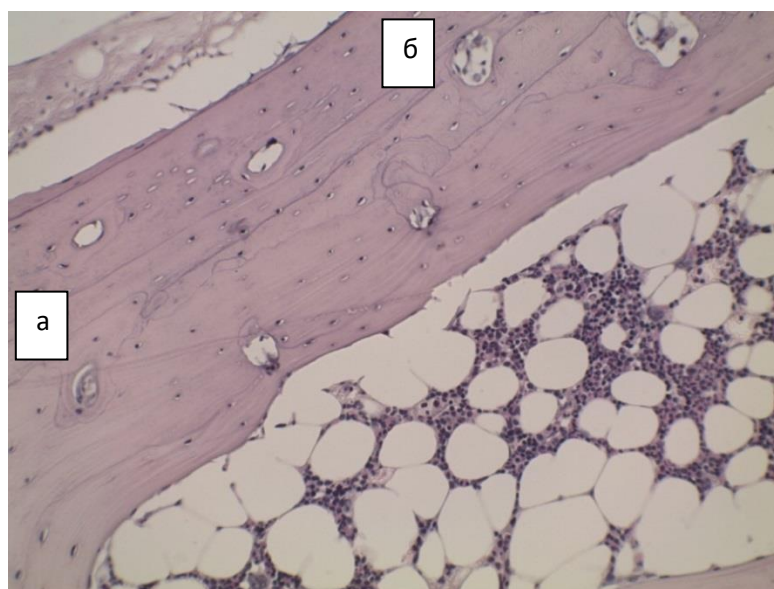
В некоторых участках на внутренней кортикальной пластинке теменной кости в этом же опыте в очагах воздействия располагались базофильные массы (рисунок 17).

Структура внутренней кортикальной пластинки не изменялась, между костными балками преобладал жировой костный мозг с очагами кроветворного. Не было отмечено признаков остеогенеза или активации клеток-предшественников остеобластов (рисунок 18).



а – утолщенная надкостницы; б – на поверхности базофильные очаги некроза.

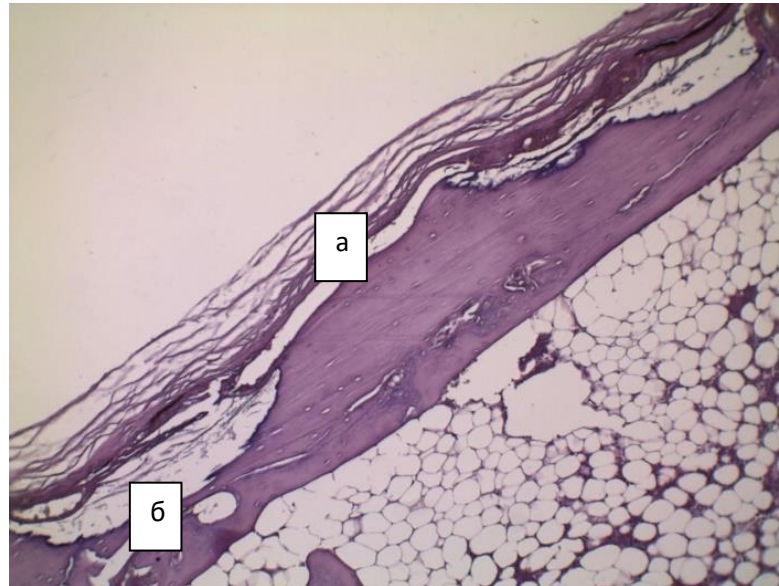
Рисунок 17 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Фрагмент надкостницы в некоторых участках препарата после воздействия лазера с длиной волны 980 нм на сроке 21 день после оперативного вмешательства



а – неизменная структура внутренней кортикальной пластинки;
б – сохраненные остециты в клеточных лакунах

Рисунок 18 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Внутренняя кортикальная пластинка через 21 день после воздействия лазером

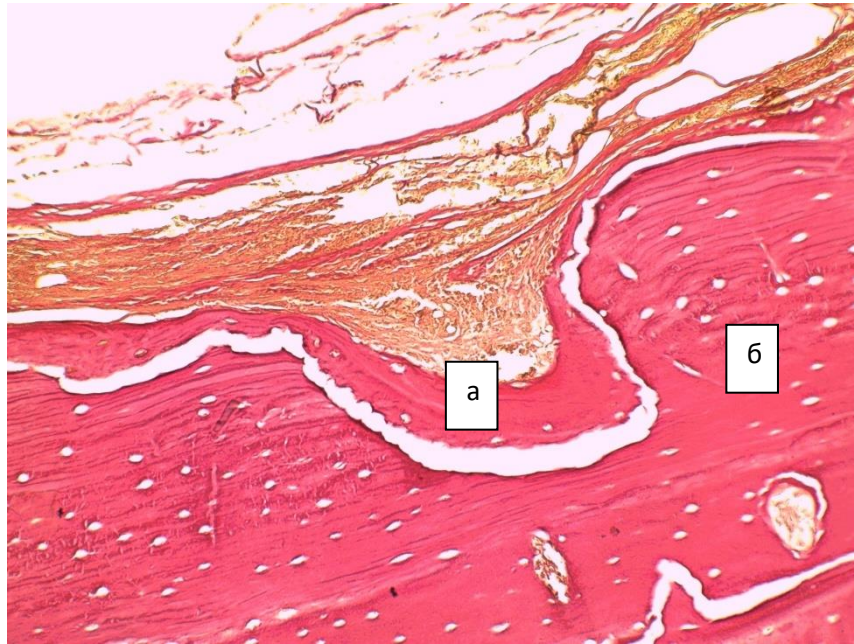
Через 45 дней после применения лазера с длиной волны 980 нм в зоне с сохранением надкостницы в наружной кортикальной пластинке определялись мелкие чашевидные дефекты, надкостница была разволокнена (рисунок 19).



а – разволокнение надкостницы; б – чашевидные дефекты в кортикальной пластинке.

Рисунок 19 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Фрагмент препарата после воздействия лазером 980 нм через 45 дней после оперативного вмешательства

В некоторых участках наблюдалось отщепление фрагмента кортикальной пластинки в месте воздействия. Внутренняя кортикальная пластинка, губчатая кость и костный мозг не проявляли отклонений от нормы (рисунок 20).



а – отщепление фрагмента после лазерного воздействия; б – пустые клеточные лакуны.

Рисунок 20 – Микрофотография. Окраска по ван Гизон, увеличение $\times 200$.

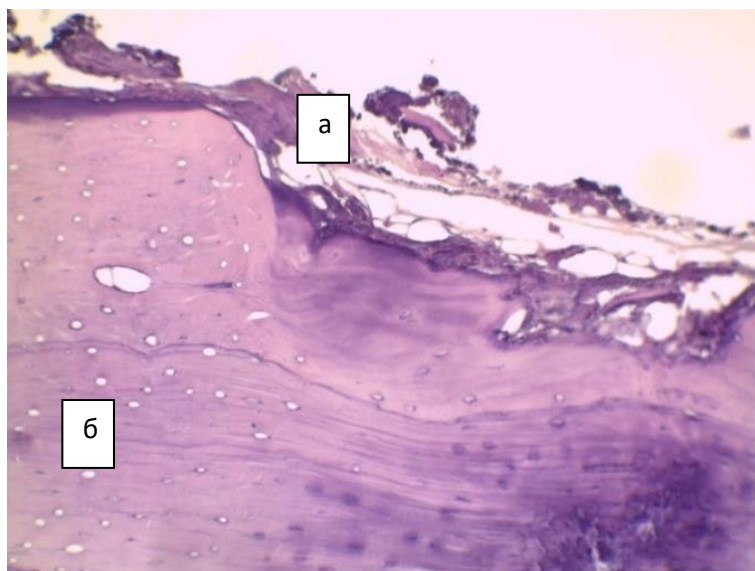
Фрагмент кортикальной пластинки

2.3.1.2 Оценка гистологической структуры костной ткани

теменной кости кроликов в зоне с отслоением надкостницы (зона 2)

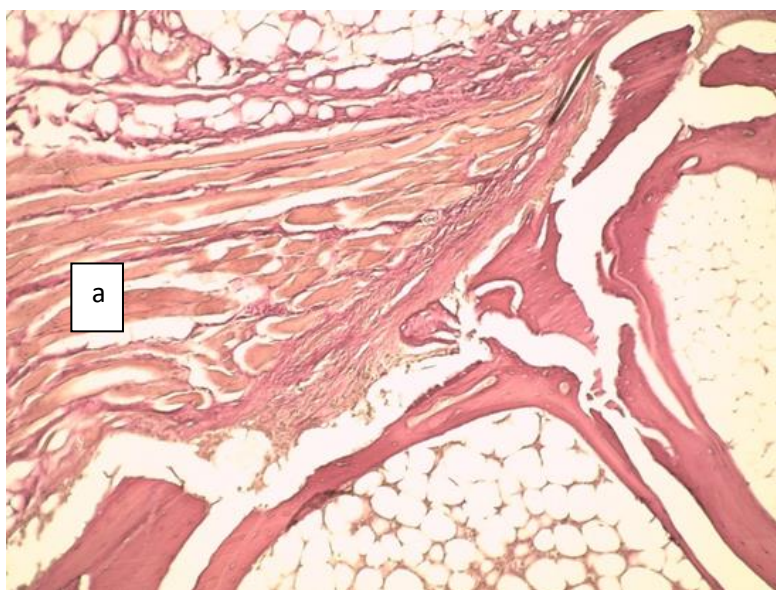
В зоне с отслоением надкостницы через 21 день при использовании лазера 980 нм в участках воздействия были заметны дефекты в виде неглубоких чаш, с небольшим количеством масс детрита. Вокруг очага наблюдались пустые клеточные лакуны (рисунок 21).

Через 45 дней после воздействия лазера в данной зоне в кортикальной пластинке сохранялись пустые клеточные лакуны. Местами наблюдалось прирастание мягких тканей (мышечной и волокнистой) к поверхности кортикальной пластинки (рисунок 22).



а – детрит в очагах воздействия лазера на кость, б – пустые клеточные лакуны.

Рисунок 21 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Вид кортикальной пластинки через 21 день после воздействия лазером в зоне с отслоением надкостницы



а – мышечная ткань, плотно прилежащая к кортикальной пластинке с явлениями деструкции.

Рисунок 22 – Микрофотография. Окраска по Ван Гизону, увеличение $\times 200$. Вид кортикальной пластинки через 45 дней после лазерного воздействия

В некоторых участках препарата сохранялись очаги повреждения с остатками некротических масс (рисунок 23).



а – неглубокий очаг, заполненный гомогенным детритом; б – второй очаг детрита.

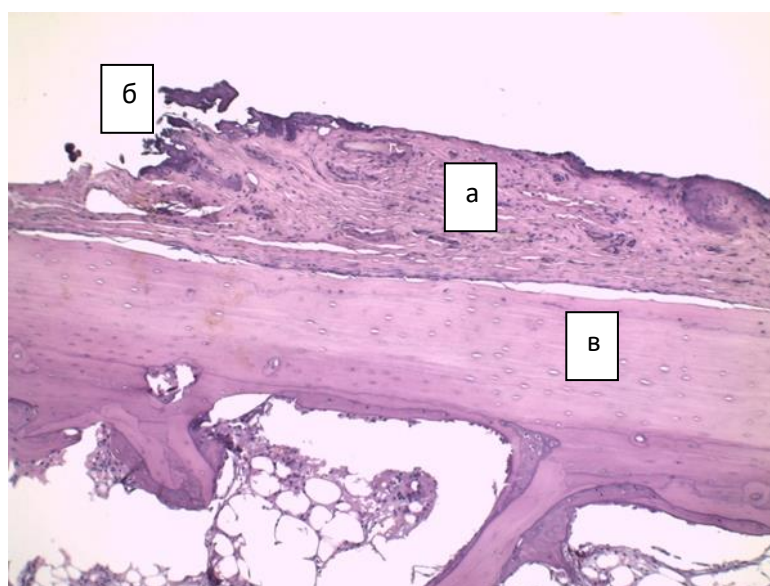
Рисунок 23 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Фрагмент кортикальной пластинки через 45 дней после лазерного воздействия

Учитывая отсутствие значимых морфологических изменений при воздействии лазера с длиной волны 980 нм на зону костной ткани с сохраненной надкостницей и на зону с ее отслоением, принято решение не проводить гистологический анализ в зоне с созданием дефектов и воздействием на него лазерного излучения.

2.3.2 Гистологическое исследование костной ткани при воздействии лазера с длиной волны 1550 нм

2.3.2.1 Оценка гистологической структуры костной ткани теменной кости кроликов в зоне с сохраненной надкостницей (зона 1)

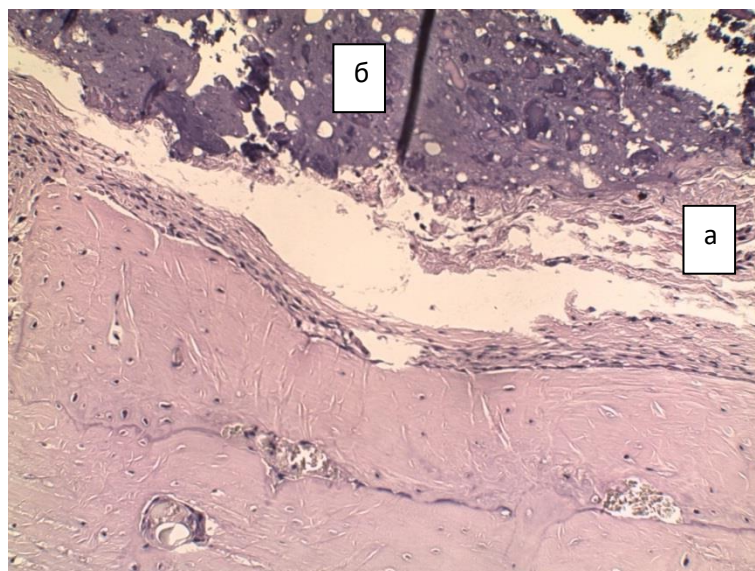
При применении лазера 1550 нм у животных с сохраненной надкостницей через 21 день воздействие лазера вызывало отслоение, некроз и гомогенизацию надкостницы, отложение обугленных масс на поверхности, пикноз ядер остеоцитов кортикальной пластинки (рисунок 24).



а – надкостница разволокнена, местами утолщена, фиброзирована;
б – очаги базофильного детрита; в – пустые клеточные лакуны.

Рисунок 24 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Вид наружной кортикальной пластинки через 21 день после лазерного воздействия

Через 45 дней после воздействия лазера клеточный слой надкостницы частично восстанавливался, над ее поверхностью сохранялись некротизированные массы (рисунок 25).

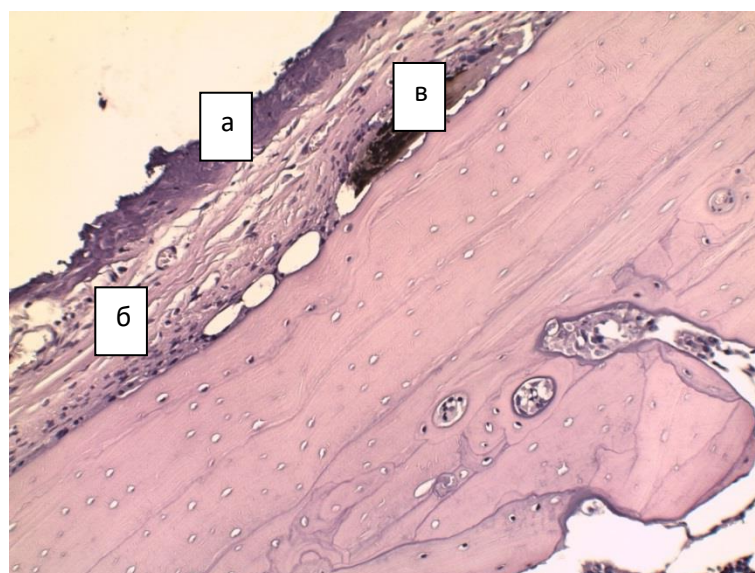


а – восстановленный клеточный слой надкостницы;

б – сохранение некротических масс над очагом воздействия.

Рисунок 25 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Вид наружной кортикальной пластинки через 45 дней после лазерного воздействия

Особенностей изменения структуры внутренней кортикальной пластинки не обнаружено (рисунок 26).



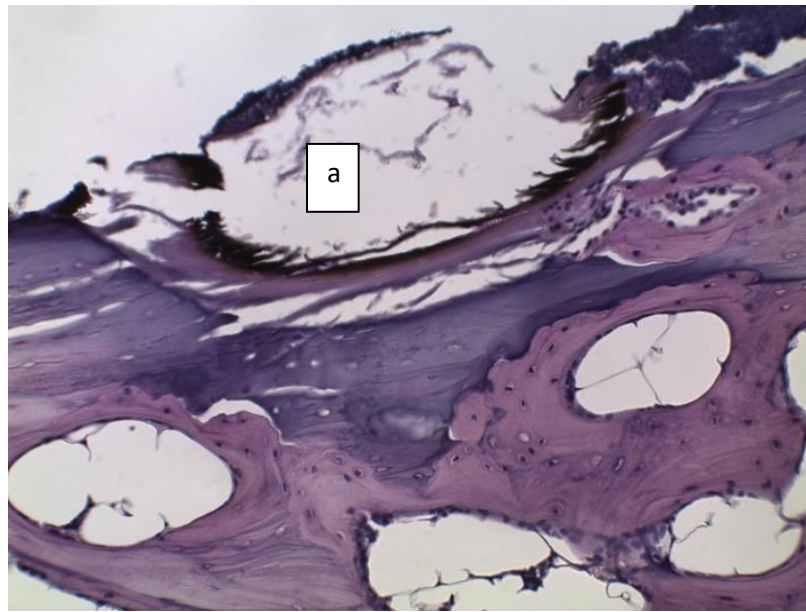
а – на поверхности надкостницы сохраняется детрит в виде узкой базофильной полоски;

б – восстановление клеточного слоя надкостницы; в – небольшой очаг обугленного некроза.

Рисунок 26 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Фрагмент препарата через 45 дней после лазерного воздействия

*2.3.2.2 Оценка гистологической структуры костной ткани
теменной кости кроликов в зоне с отслоением надкостницы (зона 2)*

В зоне с отслоением надкостницы при использовании лазера 1550 нм через 21 день в очагах воздействия лазера заметны деструкция с образованием чашевидных дефектов и обугливание (рисунок 27).

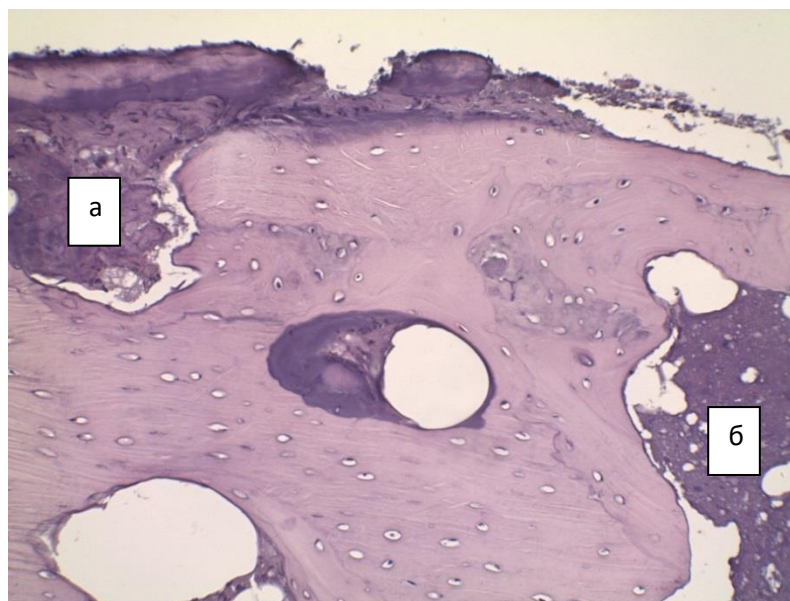


а – глубокий очаг деструкции кортикальной пластинки заполнен обугленным детритом и некротизированной костью.

Рисунок 27 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$. Вид наружной кортикальной пластинки через 21 день после лазерного воздействия

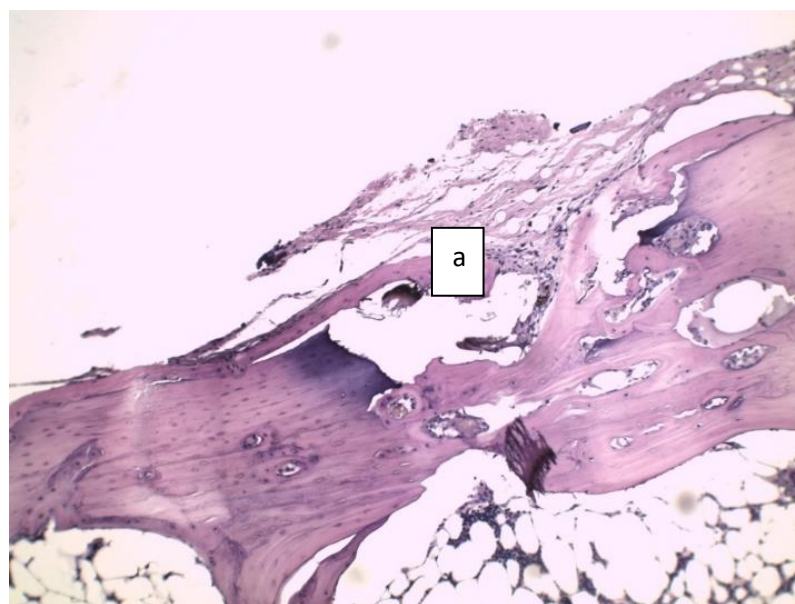
Также некротические массы были заметны не только в очаге деструкции, но и в толще кортикальной пластинки (рисунок 28).

Через 45 дней на месте воздействия был замечен чашеобразный дефект с остатками базофильных некротических масс. В окружающей костной ткани не отмечалось признаков остеогенеза (рисунок 29).



а – очаги базофильного некроза на поверхности;
б – очаги базофильного некроза в толще костные пластинки.

Рисунок 28 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Фрагмент наружной кортикальной пластинки через 21 день после оперативного вмешательства

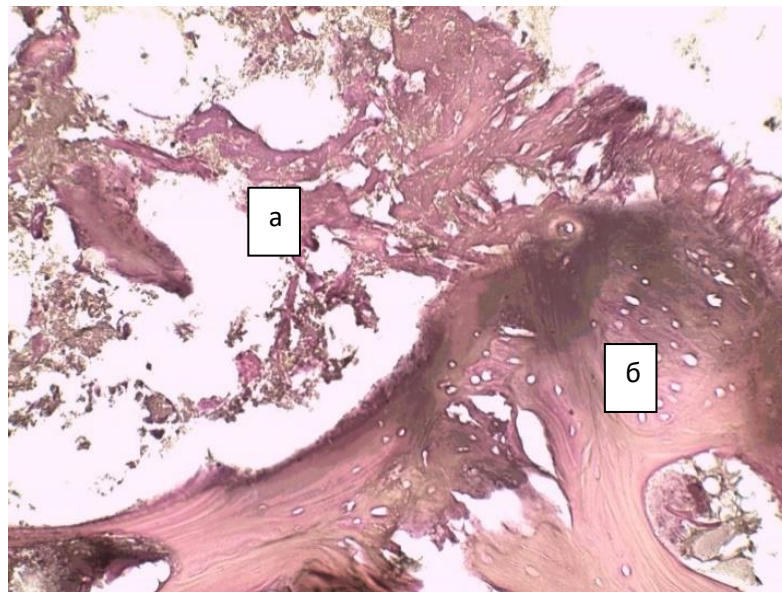


а – очаг воздействия с остатками некротических масс.

Рисунок 29 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Вид наружной кортикальной пластинки через 45 дней после лазерного воздействия

*2.3.2.2 Оценка гистологической структуры костной ткани
теменной кости кроликов в зоне с созданием дефектов (зона 3)*

В зоне с созданием дефектов в кости, лишенной надкостницы, через 21 день область воздействия была заполнена некротизированной костной тканью и ее фрагментами, с большим количеством костного и тканевого детрита (рисунок 30).

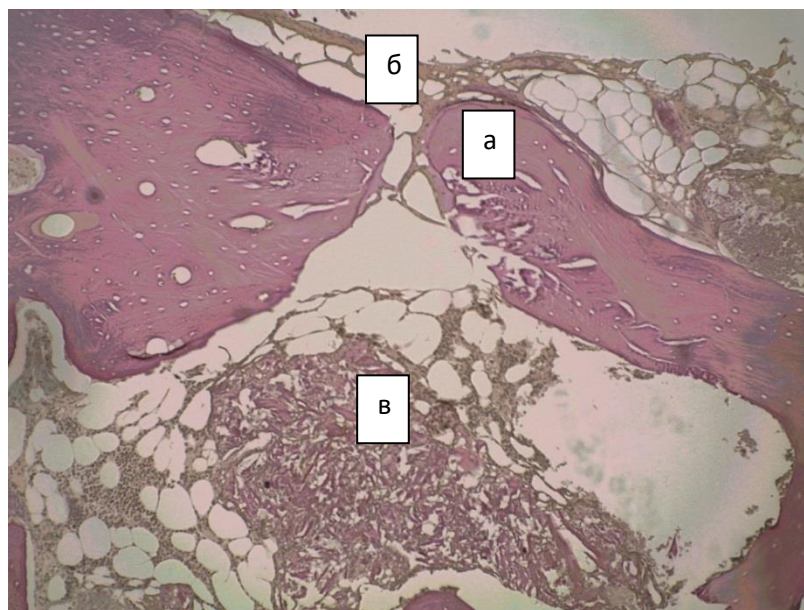


а – костные фрагменты и тканевой детрит в центре дефекта;
б – пустые клеточные лакуны по краям дефекта.

Рисунок 30 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Вид зоны костной ткани с созданием дефектов через 21 день после лазерного воздействия

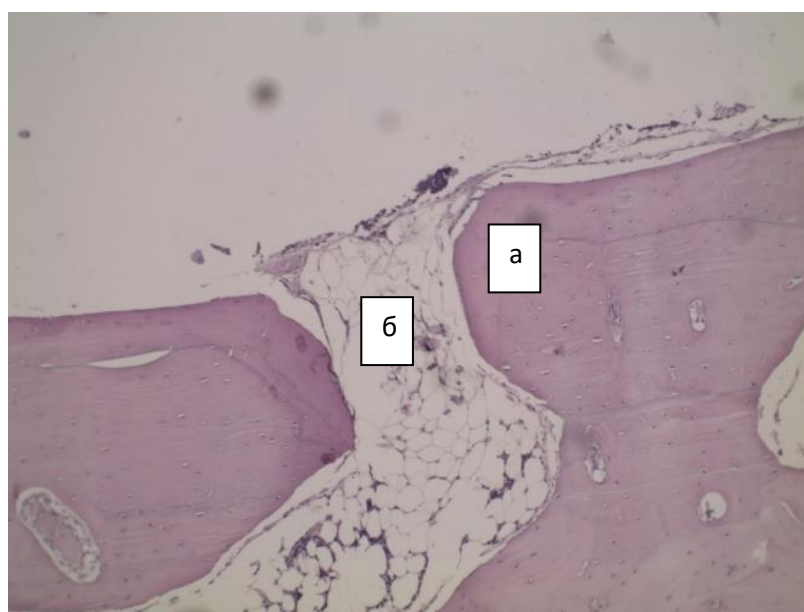
Через 45 дней дефект сохранялся в виде узкой щели, концы кортикальной пластинки были закруглены, промежуток между отломками заполнен волокнистыми массами, некротизированными костными фрагментами (рисунок 31).

В некоторых участках дефект сохранялся и заполнялся жировым костным мозгом (рисунок 32).



а – концы кортикальной пластинки закруглены; б – волокнистая ткань;
ниже в – некротизированные костные фрагменты.

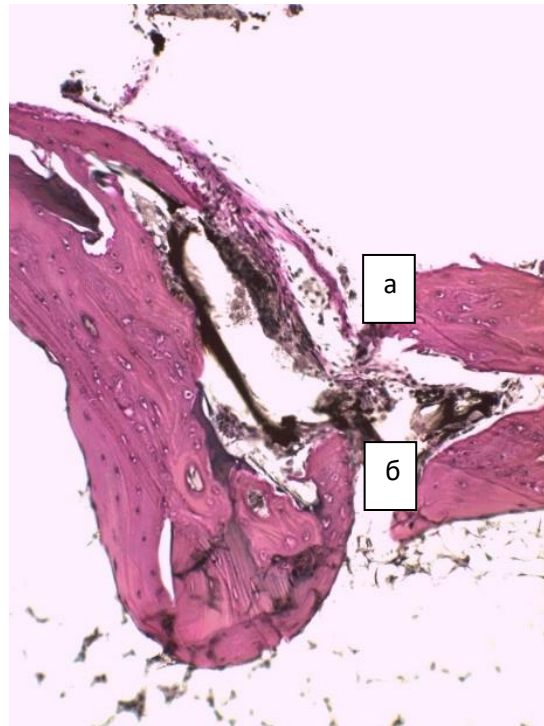
Рисунок 31 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Фрагмент зоны костной ткани с созданием дефектов через 45 дней после лазерного воздействия



а – концы кортикальной пластинки закруглены; б – волокнистая ткань.

Рисунок 32 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$. Зона костной ткани с созданием дефектов через 45 дней после лазерного воздействия

У 6 животных из 10 наблюдается наличие костных фрагментов в области дефекта, стимулирующих остеогенез (рисунок 33).



а – молодая новообразованная кость по краям дефекта;

б – сохранившийся в небольшом количестве обугленный детрит.

Рисунок 33 – Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Зона дефекта через 45 дней после оперативного вмешательства

2.4 Методы статистической обработки результатов

Сбор результатов исследований, хранение и сортировка выполнялись на персональном компьютере в операционной системе Windows 7 с помощью пакета приложений Microsoft Excel 2016 («Microsoft Corporation», США).

Для морфометрического анализа использовалась программа Fiji.app. Измерения проводились на микрофотографиях с одинаковым увеличением $\times 200$. Измерялась толщина надкостницы в пикселях, которые принимались за условные единицы, что было адекватно для сравнительной оценки. Площадь очага

повреждения костной ткани оценивалась в процентах ко все площади микрофотографии, которая была одинакова.

Статистический анализ полученных данных произведен с помощью программы MedCalc®v.19.1.3. Все полученные ряды данных были проверены на соответствие критериям нормального распределения с помощью теста Шапиро-Уилка, после чего для описания групп были использованы показатели средней величины и ошибки средней величины. Для сравнительного анализа полученных результатов в различных группах был использован точный критерий Фишера для сравнения выборок малого объема.

Все проанализированные показатели рассчитывались с двусторонним доверительным интервалом. Достоверным принималось значение $p < 0,05$.

2.5 Результаты гистоморфометрического анализа

Для количественной оценки наблюдаемых изменений в костной ткани был проведен гистоморфологический анализ с целью оценки следующих показателей:

- 1) Толщина надкостницы при воздействии диодным лазером длиной волны 980 нм на 21 сутки после оперативного вмешательства.
- 2) Толщина надкостницы при воздействии диодным лазером длиной волны 980 нм на 45 сутки после оперативного вмешательства.
- 3) Толщина надкостницы при воздействии диодным лазером длиной волны 1550 нм на 21 сутки после оперативного вмешательства.
- 4) Толщина надкостницы при воздействии диодным лазером длиной волны 1550 нм на 45 сутки после оперативного вмешательства.
- 5) Площадь дефекта при воздействии диодным лазером длиной волны 980 нм на 21 сутки после оперативного вмешательства.
- 6) Площадь дефекта при воздействии диодным лазером длиной волны 980 нм на 45 сутки после оперативного вмешательства.

7) Площадь дефекта при воздействии диодным лазером длиной волны 1550 нм на 21 сутки после оперативного вмешательства.

8) Площадь дефекта при воздействии диодным лазером длиной волны 1550 нм на 45 сутки после оперативного вмешательства.

Все животные были разделены на четыре группы в зависимости от наблюдаемых тканевых изменений:

1-я группа – воздействие лазера с длиной волны 980 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей.

2-я группа – воздействие лазера с длиной волны 980 нм на костную ткань без надкостницы.

3-я группа – воздействие лазера с длиной волны 1550 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей.

4-я группа – воздействие лазера с длиной волны 1550 нм на костную ткань без надкостницы.

Измерения не проводились в зоне с созданием дефектов костной ткани. Толщина надкостницы была оценена только в 1 и 3 группе животных (с сохраненной надкостницей), так как во 2 и 4 воздействие осуществлялось на кость без надкостницы (рисунок 34).

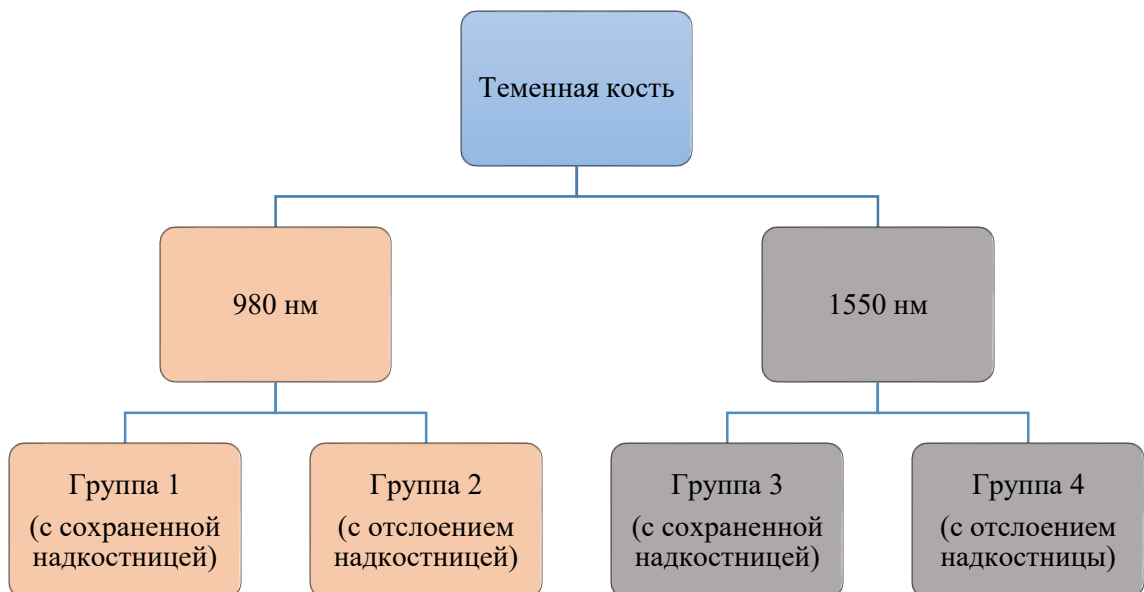


Рисунок 34 – Схема деления животных на группы для проведения гистоморфометрического анализа

Выведение животных проводилось по следующей схеме: 5 животных выведены из эксперимента на 21 сутки после оперативного вмешательства. Оставшиеся 5 животных выведены из эксперимента на 45 сутки после проведенного хирургического вмешательства.

**2.5.1 Результаты гистоморфометрического исследования
костной ткани животных группы 1 (воздействие лазера с длиной волны
980 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей)**

В данной группе животных не было зафиксировано деструкции костной ткани после лазерного воздействия на обоих сроках наблюдения, поэтому площадь дефекта оказалась равной 0.

При оценке толщины надкостницы в данной группе животных через 21 день после проведения манипуляции показатель варьировал от 283,00 до 727,00 у.е., средний показатель составил $538,0 \pm 132,35$ у.е. (95% ДИ -31,46-1107,46). А через 45 дней после проведения манипуляции этот показатель варьировал от 417,00 до 490,00 у.е., а средний показатель составил $462,33 \pm 22,85$ у.е. (95% ДИ 346,02-560,65).

При проведении сравнительно анализа толщины надкостницы на 21 день наблюдения с нормой, показатель оказался выше нормального значения на $325,00 \pm 132,35$ у.е. (95% ДИ -244,46-894,46), причем это увеличение было достоверным – $p=0,0369$ (рисунок 35).

За время наблюдения с 21 по 45 день толщина надкостницы в данной группе животных в среднем уменьшилась на $75,67 \pm 151,19$ у.е. (95% ДИ -726,18-574,85) и варьировала от уменьшения на 310,00 у.е. до увеличения на 207,00 у.е. Причем следует отметить, что на 45 сутки после операции толщина надкостницы, не смотря на ее уменьшение по сравнению с 21 сутками, была в среднем выше нормального значения на $249,33 \pm 22,85$ у.е. (95% ДИ 151,02-347,65), причем данные отличия также были достоверны $p=0,369$ (рисунок 36).

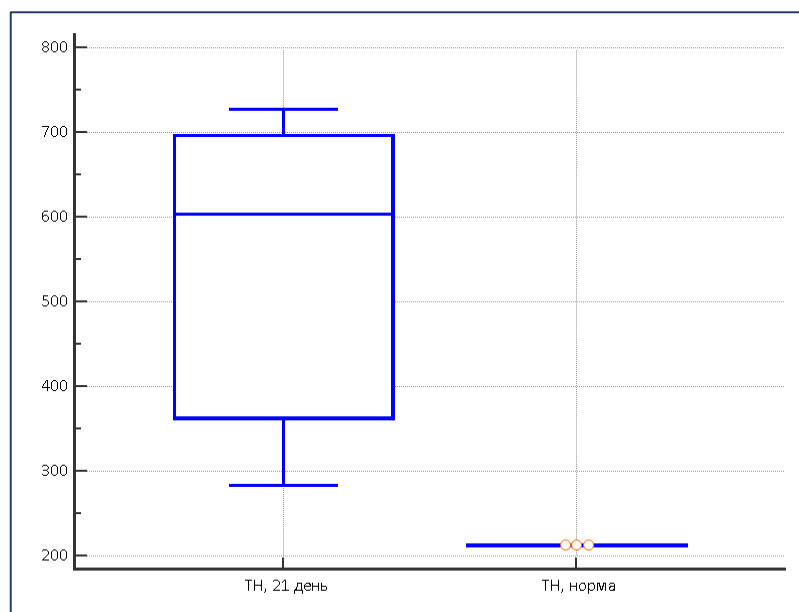


Рисунок 35 – Сравнительный анализ показателя толщины надкостницы на 21 день наблюдения с нормой в 1-ой группе животных

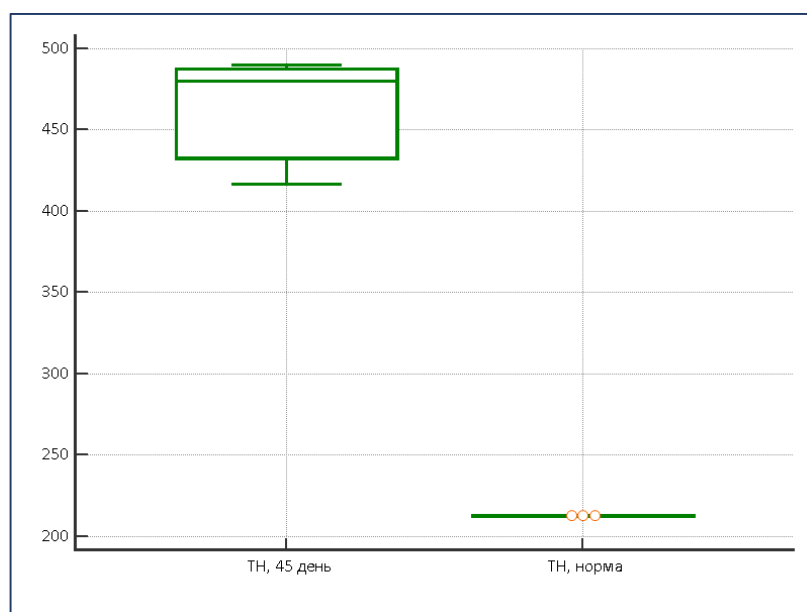


Рисунок 36 – Сравнительный анализ показателя толщины надкостницы на 45 день наблюдения с нормой в 1-ой группе животных

Однако, проведенный сравнительный анализ не выявил достоверных различий в толщине надкостницы на 21 и 45 сутки в данной группе животных – $p=0,058$.

**2.5.2 Результаты гистоморфометрического исследования
костной ткани животных группы 2 (воздействие лазера с длиной волны
980 нм на костную ткань с отслоением надкостницы)**

В данной группе животных производилась только оценка площади дефекта после лазерного воздействия.

Через 21 день после оперативного вмешательства данный показатель варьировал от 4,50 до 8,20 у.е., а средний показатель составил $6,10 \pm 1,09$ у.е. (95% ДИ 1,38-10,82). На сроке наблюдения в 45 дней площадь дефекта составляла от 7,20 до 8,70 у.е., где средний показатель был равен $8,00 \pm 0,44$ у.е. (95% ДИ 6,12-9,88).

За время наблюдения с 21 по 45 день площадь дефекта в данной группе животных подвергалась изменениям в диапазоне от -1,00 до 4,20 у.е., поэтому в среднем было выявлено увеличение показателя площади дефекта на $1,90 \pm 1,53$ у.е. (95% ДИ -4,69-8,49).

Однако, проведенный сравнительный анализ также не выявил достоверных различий в площади дефекта на 21 и 45 сутки во 2-ой группе животных – $p=0,2730$.

**2.5.3 Результаты гистоморфометрического исследования
костной ткани животных группы 3 (воздействие лазера с длиной волны
1550 нм на костную ткань с сохраненной надкостницей)**

В данной группе животных производилась оценка обоих показателей – площади деструкции и толщины надкостницы после лазерного воздействия.

Показатель площадь дефекта через 21 день после проведения операции варьировал от 5,20 до 8,70 у.е., где средний показатель составил $6,73 \pm 1,03$ у.е. (95% ДИ 2,29-11,18).

На сроке в 45 дней данный показатель был в диапазоне от 7,60 до 9,20 у.е., а средний показатель составил $8,67 \pm 0,53$ у.е. (95% ДИ 6,37-10,96).

За период наблюдения с 21 по 45 день показатель площадь дефекта в данной группе животных изменялся в диапазоне от -1,10 до 4,00 у.е., поэтому в среднем было выявлено увеличение данного показателя на $1,93 \pm 1,55$ у.е. (95% ДИ -4,73-8,60).

Проведенный сравнительный анализ с помощью критерия Mann-Whitney не выявил достоверных различий в площади дефекта после лазерного воздействия на обоих сроках наблюдения в данной группе животных – $p=0,4210$.

При анализе показателя толщины надкостницы через 21 день после лазерного воздействия были получены данные в диапазоне 607,00 до 815,00 у.е., где средний показатель составил $679,0 \pm 68,04$ у.е. (95% ДИ 386,25-971,75).

На сроке наблюдения 45 дней после лазерной обработки толщина надкостницы варьировала от 317,00 до 418,00 у.е., а средний показатель составил $359,00 \pm 30,37$ у.е. (95% ДИ 228,33-489,67).

При проведении сравнительно анализа толщины надкостницы на 21 день наблюдения с нормой, показатель оказался выше нормального значения на $466,00 \pm 68,04$ у.е. (95% ДИ 173,25-758,75), причем это увеличение было достоверным – $p=0,0369$ (рисунок 37).

За период наблюдения с 21 по 45 день толщина надкостницы в данной группе животных в среднем уменьшилась на $320,00 \pm 81,07$ у.е. (95% ДИ -668,83-28,83), где данные варьировали в диапазоне от 473,00 у.е. до 197,00 у.е.

Причем следует отметить, что на 45 сутки наблюдения толщина надкостницы, не смотря на ее уменьшение по сравнению с 21 сутками, была в среднем выше нормального значения на $146,00 \pm 30,37$ у.е. (95% ДИ 15,33-276,67), причем данные отличия также были достоверны $p=0,369$ (рисунок 38).

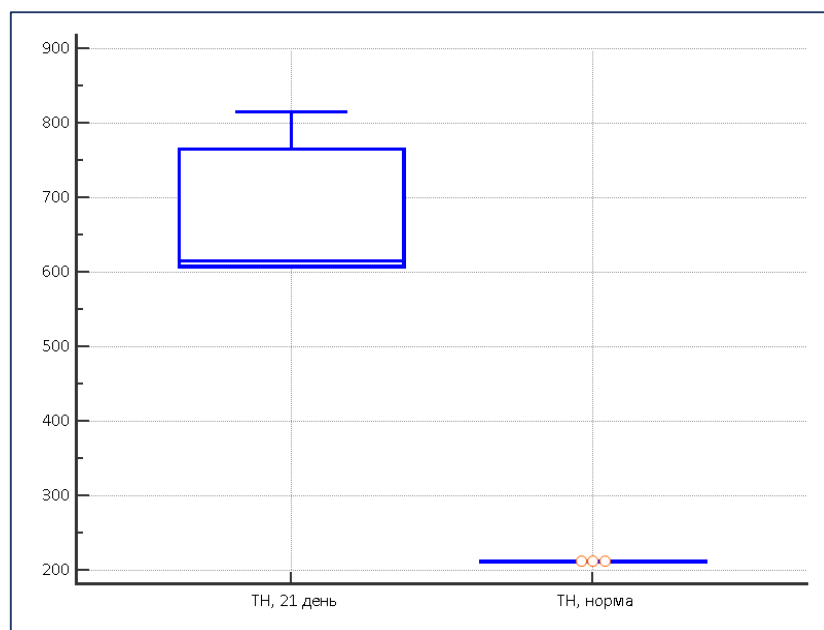


Рисунок 37 – Сравнительный анализ показателя толщины надкостницы на 21 день наблюдения с нормой в 3 группе животных

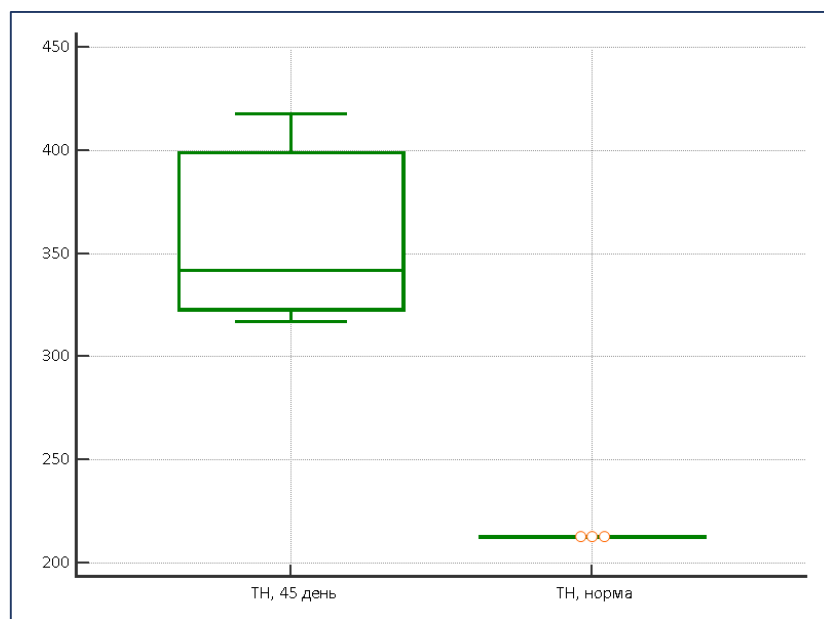


Рисунок 38 – Сравнительный анализ показателя толщины надкостницы на 45 день наблюдения с нормой в 3 группе животных

Однако, проведенный сравнительный анализ не выявил достоверных различий в толщине надкостницы на 21 и 45 сутки в 1 группе животных – $p=0,332$.

2.5.4 Результаты гистоморфометрического исследования костной ткани животных группы 4 (воздействие лазера с длиной волны 1550 нм на костную ткань с отслоением надкостницы)

В данной группе животных была произведена оценка только показателя площади дефекта костной ткани после лазерного воздействия, который через 21 день после проведения манипуляции варьировал от 9,70 до 15,40 у.е., а средний показатель составил $12,93 \pm 1,69$ у.е. (95% ДИ 5,66-20,20). На сроке в 45 дней после проведения манипуляции площадь дефекта была в диапазоне от 14,10 до 21,10 у.е., где средний показатель составил $17,23 \pm 2,05$ у.е. (95% ДИ 8,40-26,07).

За время наблюдения с 21 по 45 день площадь дефекта в 4-ой группе животных подвергалась изменениям в диапазоне от -1,30 до 11,40 у.е., поэтому в среднем было отмечено увеличение площади дефекта на $4,30 \pm 3,74$ у.е. (95% ДИ -11,80-20,40).

Однако, проведенный сравнительный анализ с помощью критерия Манн-Whitney не выявил достоверных различий в площади дефекта на 21 и 45 сутки в данной группе животных – $p=0,8070$.

2.5.5 Сравнительный анализ гистоморфометрических характеристик животных 1 и 3 группы

При сравнительном анализе показателей площади дефекта костной ткани в группах животных с сохраненной надкостницей был выявлен следующий ряд различий.

На 21 сутки площадь дефекта костной ткани животных 3 группы (с применением лазера с длиной волны 1550 нм) была достоверно выше, чем у животных группы 1 (с применением лазера с длиной волны 980 нм) – $p=0,0369$ (рисунок 39).

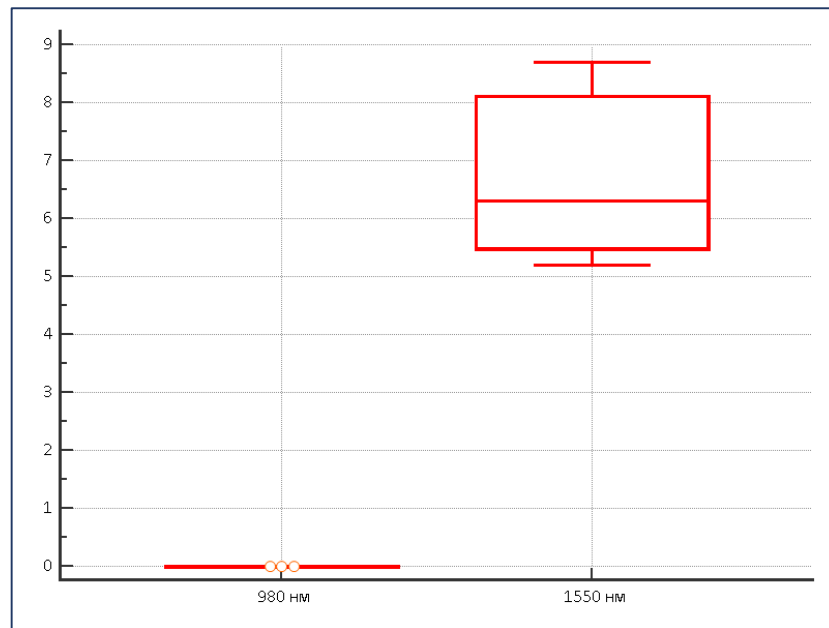


Рисунок 39 – Сравнительный анализ площади деструкции на 21 сутки после манипуляции в 1-ой и 3-ей группах животных

На 45 сутки после оперативного вмешательства площадь деструкции костной ткани была также достоверно выше в 3-ей группе животных – $p=0,0339$ (рисунок 40).

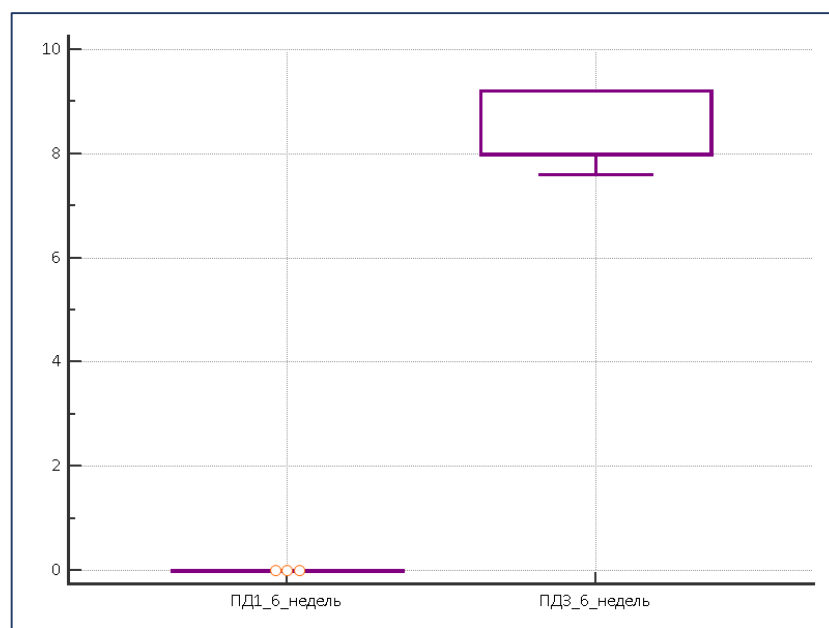


Рисунок 40 – Сравнительный анализ площади деструкции на 45 день после манипуляции в 1-ой и 3-ей группах животных

2.5.6 Сравнительный анализ гистоморфометрических характеристик животных 2 и 4 группы

При сравнительном анализе показателей площади дефекта костной ткани в группах животных без надкостницы были выявлены следующие различия.

На 21 сутки показатели площади дефекта в группах животных 2 и 4 достоверно не отличались – $p=0,1000$. Аналогичная картина также наблюдалась и на 45 сутки после оперативного вмешательства – достоверных различий данного показателя при воздействии лазеров с различной длиной волны выявлено не было – $p=0,1000$.

При сравнительном анализе толщины надкостницы на 21 сутки данный показатель в группе животных 2 (с использованием лазера с длиной волны 980 нм) достоверно не отличался от группы 4 (с применением лазера с длиной волны 1550 нм) – $p=0,4000$. На 45 сутки наблюдения также не выявлено достоверных различий в толщине надкостницы между обеими группами – $p=0,2000$.

2.6 Обсуждение

Влияние лазерного излучения на регенерацию костной ткани мало изучено и является актуальной темой не только в стоматологии, но и в других специальностях. Migliario и Huertas свидетельствуют об эффективности применения диодных лазеров на остеогенные клетки и ускорения процессов заживления и восстановления костной ткани [59; 101]. Некоторые методики, например, неабляционный лазерный фототермолиз способны вызывать локальный асептический некроз тканей, который стимулирует их регенерацию. В рамках проведенного исследования нам удалось изучить все тонкости

регенерации костной ткани после лазерного воздействия с использованием технологии фракционной лазерной микрокоагуляции [177].

Обобщая результаты следует отметить, что гистологическая картина тканевых изменений у разных животных несколько различалась, но были выявлены и общие закономерности. Микроскопический анализ тканей теменной области черепа кроликов в экспериментах показал, что при воздействии лазеров с длинами волн 980 нм и 1550 нм наблюдаются выраженные деструктивные изменения в тканях. Так, в очагах воздействия определялись скопления некротических или обугленных масс, костных фрагментов, аморфного детрита.

Следует отметить, что в многих исследованиях сообщалось о полном необратимом повреждении и долгом заживлении костной ткани после лазерной обработки [46; 47; 69; 82; 102; 103; 168].

Было показано, что наиболее выраженные процессы деструкции отмечались при использовании лазера с длиной волны 1550 нм в зоне с отслойкой надкостницы, при действии его на оголенную кость. Надкостница является «щитом» для кортикальной пластинки. Наименьшие изменения были отмечены при использовании лазера с длиной волны 980 нм при сохраненной надкостнице. Страдала только наружная кортикальная пластинка и надкостница. Строение внутренней кортикальной пластинки не менялось. В костном мозге менялось соотношение жирового и кроветворного компонентов, а при более выраженном повреждении костной ткани отмечалось увеличение жирового компонента костного мозга.

Не наблюдалось воспалительных явлений в костной ткани после лазерного воздействия лазерами с длинами волн и 980 нм, и 1550 нм, только в единичных случаях как следствие асептического посттравматического процесса в виде васкуляризации и фиброзировании надкостницы. Рассасывание детрита или его организация проходили медленно и не одинаково у разных животных, поэтому у некоторых из них аморфные массы сохранялись на сроке в 45 дней, что объясняется особенностями строения сосудистой системы черепа и слабыми потенциями клеточного и бесклеточного рассасывания. Поэтому можно сделать

вывод, что использование костей черепа, а именно теменных костей не рекомендуется для проведения исследований с использованием диодных лазеров для изучения регенерации тканей.

Характерно, что несмотря на наличие костных фрагментов в группе животных с созданием дефекта и воздействием на него лазерного излучения, в 6 случаях из 10 отмечалось образование молодой костной ткани в виде небольшой зоны по периферии очага поражения. Это вызвано повреждением клеток-предшественников остеобластов, стимулирующих остеогенез. Этот процесс наблюдался Bloise и соавторами в исследовании на клетках, подобных остеобластам человека (Saos-2) [88].

При оценке результатов гистоморфометрического анализа были изучены такие показатели, как площадь деструкции и толщина надкостницы при воздействии различными диодными лазерами на сроках наблюдения в 21 и 45 дней после оперативного вмешательства.

При воздействии обоими видами диодных лазеров на костную ткань с сохраненной надкостницей показатели толщины надкостницы были выше нормального значения на обоих сроках наблюдения. Увеличение толщины надкостницы после манипуляции вероятнее всего связано с процессами васкуляризации и фиброзировании надкостницы в ответ на асептический некроз тканей после лазерного воздействия, однако подобные изменения тканей можно наблюдать после воздействий любых травматических агентов на костную ткань, но не всегда они будут носить асептический характер [33].

Важно отметить, что толщина надкостницы за время наблюдения с 21 по 45 день в среднем уменьшилась на $75,67 \pm 151,19$ у.е. (95% ДИ -726,18-574,85) при воздействии лазером с длиной волны 980 нм и на $320,00 \pm 81,07$ у.е. (95% ДИ -668,83-28,83) при воздействии лазером с длиной волны 1550 нм, но все же была выше нормального значения в обеих группах животных.

При анализе площади деструкции было установлено, что при воздействии лазера с длиной волны 980 нм на зону с сохраненной надкостницей данный показатель был равен 0. Это означает, что надкостница является своеобразным

«защитным слоем» для костной ткани и данный тип излучения может повлиять только на качественный состав клеток, а именно через 21 день наблюдались пустые клеточные лакуны и пикноз ядер остеоцитов в наружной кортикальной пластинке. Это отражает прошедшее асептическое воспаление в ответ на лазерное воздействие. На сроке 45 дней после манипуляции качественный состав клеток костной ткани лишь немного отличался от нормального строения.

В случаях с воздействием лазера с длиной волны 1550 нм на зону с сохраненной надкостницей было установлено, что излучение проникает через нее и наблюдаются как качественные, так и количественные изменения в костной ткани. Это доказывает более сильное действие данного типа лазера, по сравнению с лазером с длиной волны 980 нм.

В отличие от толщины надкостницы, которая уменьшалась в период от 21 к 45 дню после операции при воздействии обоими типами лазеров, показатель площади дефекта к 45 дню наблюдения увеличивался в среднем на $1,93 \pm 1,55$ (95% ДИ -4,73-8,60). Однако проведенный сравнительный анализ с помощью критерия Mann-Whitney все же не выявил достоверных различий этого показателя на 21 и 45 сутки – $p=0,4210$.

При анализе групп животных с лазерным воздействием на костную ткань без надкостницы также наблюдаются качественные и количественные изменения в костной ткани. Также, как и в зонах с сохраненной надкостницей показатель площади дефектов увеличивается от 21 к 45 дню наблюдения после оперативного вмешательства в среднем на $1,90 \pm 1,53$ у.е. (95% ДИ -4,69-8,49) при воздействии лазера с длиной волны 980 нм и на $4,30 \pm 3,74$ у.е. (95% ДИ -11,80-20,40) при воздействии лазера с длиной волны 1550 нм.

Важно отметить, что также наблюдается более выраженное деструктивное действие лазера с длиной волны 1550 нм, по сравнению с лазером с длиной волны 980 нм. Например, на сроке в 45 дней после операции показатель площади дефекта во 2 группе животных в среднем составлял $8,00 \pm 0,44$ у.е. (95% ДИ 6,12-9,88), а в 4 группе – $17,23 \pm 2,05$ у.е. (95% ДИ 8,40-26,07), что является наиболее высоким значением в сравнении со всеми остальными группами

животных. Однако, проведенный сравнительный анализ также не выявил достоверных различий данного показателя на 21 и 45 сутки наблюдения после операции – $p=0,8070$.

Также нами отмечено, что проведение конусно-лучевой компьютерной томографии не оправдано для изучения влияния диодных лазеров с длинами волн 980 нм и 1550 нм на состояние костной ткани. Выполнение данного вида исследования не показало никаких отличий от нормальной анатомии черепа кроликов, даже в зоне с созданием дефектов костной ткани, не было выявлено изменений в объеме твердых тканей в зоне проведения лазерного воздействия.

В отличие от диодных лазеров, применение конусно-лучевой компьютерной томографии в исследованиях с применением эрбиевого лазера (Er: YAG-laser) с длиной волны 2,94 мкм было оправдано. На рентгенологических данных было возможно оценить площадь дефектов, их регенерацию на сроках в 1,5 и 3 месяца после операции и сравнить конгломерацию гранул ксенопластического материала с собственной костной тканью при использовании лазера и без него [19; 47].

Изменения при воздействии диодными лазерами носят больше не количественный, а качественный характер, происходит изменение клеточного состава костной ткани. Также большая часть изменений происходит в надкостнице, которую невозможно в должной мере оценить на рентгенологическом исследовании.

Несмотря на то, что лазерное изучение с длинами волн 980 и 1550 нм не приводит к более быстрой регенерации костной ткани и надкостницы в ответ на повреждение, проведенный эксперимент доказал, что воздействие диодными лазерами на костную ткань не приводит к воспалительным процессам в костной ткани. Также важно отметить, что возникающие деструктивные изменения после лазерного воздействия носят асептический посттравматический характер, в отличие от других возможных травматических агентов.

Глава 3

ЛАЗЕРНАЯ БИОМОДИФИКАЦИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

3.1 Материал и методы исследования

На следующем этапе исследования технология фракционной лазерной микрокоагуляции была использована для изучения регенерации мягких тканей полости рта в зоне дентальных имплантатов.

Исследование выполнялось на базе клиники челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, СПб ГБУЗ «Стоматологическая поликлиника № 9» и ООО «Голливуд смайл».

3.1.1 Общая характеристика пациентов

С целью оценки влияния фракционной лазерной микрокоагуляции на мягкие ткани полости рта в зоне дентальных имплантатов нами проведено проспективное открытое нерандомизированное исследование, в которое было включено 60 пациентов: 14 мужчин (23,3%) и 46 женщин (76,7%). Распределение больных по гендерному признаку продемонстрировано на рисунке 41.

Фракционная лазерная микрокоагуляция проводилась по единой методике у мужчин и женщин.

Возраст пациентов был от 25 до 70 лет, медиана возраста без учёта гендерного признака составляла 54,50 года (95% ДИ 42,88-59,00).



Рисунок 41 – Распределение больных по гендерному признаку

Критериями включения были:

- 1) Пациенты возрастом от 18 до 70 лет.
- 2) Пациенты с установленными дентальными имплантатами по двухэтапной методике, количество имплантатов – от 1 до 3 единиц.
- 3) Имплантаты, установленные в боковые участки челюстей (локализация – от первого премоляра до второго моляра).
- 4) Временной период от двух недель до трех месяцев после установки имплантатов.
- 5) Пациенты с неосложненным послеоперационным периодом.
- 6) При визуальном обследовании данных пациентов и определении мукогингивальной границы выявлялась недостаточная зона прикрепленной кератинизированной десны.
- 7) Диаметр прикрепленной десны был 2 мм и менее.

Критериями исключения были:

- 1) Пациенты с рубцово-изменённой слизистой оболочкой, с наличием тяжелой полости рта в зоне имплантации.
- 2) Пациенты, которые были настроены на оперативное лечение, в связи с дефицитом времени.

3) Пациенты, которым была произведена установка формирователей десны или немедленная нагрузка временными коронками на имплантатах после оперативного вмешательства.

4) Пациенты с острым воспалением в зонах предполагаемого вмешательства.

Отбор пациентов осуществлялся без учета расы, вероисповедания, социально-экономических и прочих факторов.

Для исключения предвзятости и необъективности каждому пациенту присваивался идентификационный код участника исследования, который заполнялся в Индивидуальной Регистрационной Карте (ИРК) и дневнике пациента (рисунок 42).

ИССЛЕДОВАНИЕ №

ВИЗИТ 01 Лазерная обработка (сеанс 1)

день месяц год

Пациент №: -

Пациент ФИО: _____

Пустая страница ☐

Примечания _____ Энергия обработки _____

Биотип десны: Тонкий ☐, Средний ☐, Толстый ☐

Цвет и текстура между обработанной и окружающей тканью: до: _____ после: _____

Удовлетворенность пациентов _____

WKT	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
WKT																

WKT – ширина прикрепленной кератинизированной десны

Рисунок 42 – Индивидуальная Регистрационная Карта пациента

В таблице 1 приведена информация о локализации дентальных имплантатов и их количестве в зонах фракционной лазерной микрокоагуляции (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение имплантатов по локализации и количеству в зоне лазерной терапии

Распределение имплантатов	Верхняя челюсть			Нижняя челюсть		
Количество имплантатов в зоне лазерной обработки	1	2	3	1	2	3
	6 (10%)	13 (21,7%)	9 (15%)	11 (18,3%)	14 (23,3%)	7 (11,7%)
Всего имплантатов:	28 (46,7%)			32 (53,3%)		

На верхней челюсти было установлено 28 имплантатов (46,7%). Лазерная обработка осуществлялась в зонах, где установлено от 1 до 3 имплантатов, из них в количестве одной единицы – 6 имплантатов (10%), в количестве двух – 13 имплантатов (21,7%), а в количестве трех – 9 имплантатов (15%).

На нижней челюсти было установлено 32 имплантата (53,3%), из них в количестве одной единицы – 11 имплантатов (18,3%), в количестве двух – 14 имплантатов (23,3%), в количестве трех – 7 имплантатов (11,7%).

3.1.2 Методика фракционной лазерной микрокоагуляции

Для изучения методики неабляционного лазерного фототермолиза на мягких тканях в зоне дентальной имплантации был применен диодный лазер с длиной волны 1550 нм. Данный вид лазерного воздействия был выбран с учетом ранее проведенных исследований и технологического усовершенствования лазерной аппаратуры [19]. Лазерная обработка осуществлялась с использованием лазерного хирургического аппарата ЛСП «ИРЭ-Полюс» (регистрационное удостоверение № ФС – 2005/030) (рисунок 43).



Рисунок 43 – Лазерный хирургический аппарат ЛСП «ИРЭ-Полюс» для проведения лазерной терапии в зоне установленных дентальных имплантатов

Для регенерации десны вокруг имплантатов и возможного увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны использовался режим с длиной волны 1550 нм, мощностью 25 Вт и длительностью импульса в диапазоне от 60 до 250 мс. Мощность основного режима лазерного аппарата составляет 3 Гц. В зависимости от наличия болевых ощущений во время воздействия мощность может быть снижена до 1 Гц.

Лазерное излучение проводилось к месту воздействия через оптическое волокно (световод) с фокусирующей насадкой. Это единственная комплектующая прибора, которая имеет непосредственный контакт с тканями человека. Для создания лазерных колонок наконечник прикладывается непосредственно к исследуемым тканям и нажатием педали подается излучение (рисунок 44).



Рисунок 44 – Контакт насадки лазерного наконечника со слизистой полости рта

Воздействие в полости рта должно осуществляться при непосредственном контакте рабочего конца волоконного инструмента с десной.

3.1.3 Методика оценки эффективности и безопасности методики фракционной лазерной микрокоагуляции

В качестве основного показателя эффективности проведение фракционной лазерной терапии был принят стандартный критерий Lang и Loe. В среднем по данному критерию считается, что ширина прикрепленной кератинизированной десны более 2 мм является оптимальной для сохранения долговременной стабильности и здоровья дентального имплантата. С помощью технологии неабляционного лазерного фототермолиза необходимо было достичь данной ширины тканей у пациентов с дефицитом прикрепленной кератинизированной десны вокруг дентальных имплантатов (2 мм и менее) для того, чтобы постараться избежать дополнительного оперативного вмешательства по аугментации мягких тканей.

Для проведения корректных измерений ширины прикрепленной кератинизированной десны на каждом из этапов терапии были применены следующие методы:

1) Фотографирование.

Фотографирование проводилось на всех этапах исследования – перед лечением, во время проведения процедуры и после проведения 4 сеансов лазерных обработок. Также производилась фотофиксация на этапе установки формирователей десневой манжетки и контрольных осмотрах через 1, 3 и 6 месяцев после проведения терапии.

Фотографирование проводилось с использованием метода валика (roll test) для точного определения мукогингивальной границы на каждом из этапов исследования и для последующих измерений. На фотографиях всегда должен был присутствовать маркер известного размера. Для этой цели был создан специальный одноразовый шаблон из плотной бумаги, красного цвета, диаметром 3 мм (рисунок 45).

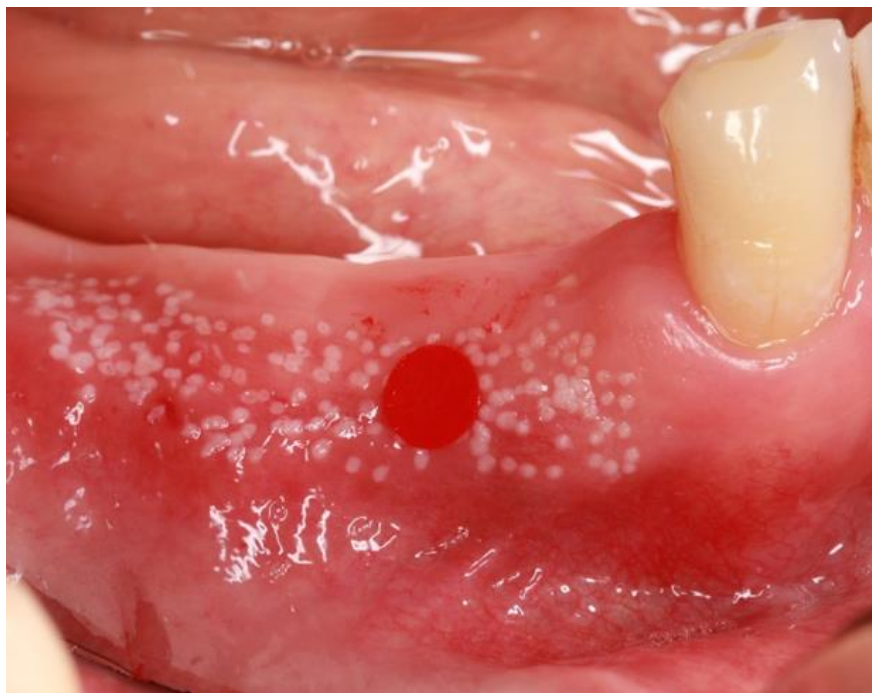


Рисунок 45 – Одноразовый шаблон для фотографирования, диаметром 3 мм

Фотографирование производилось на цифровую фототехнику Canon 500d с использованием объектива Canon EF 100mm f/2.8L Macro IS USM и с постоянными настройками: режим съемки М, чувствительность (ISO) 500, скорость затвора 1/160, диафрагма F19-F29.

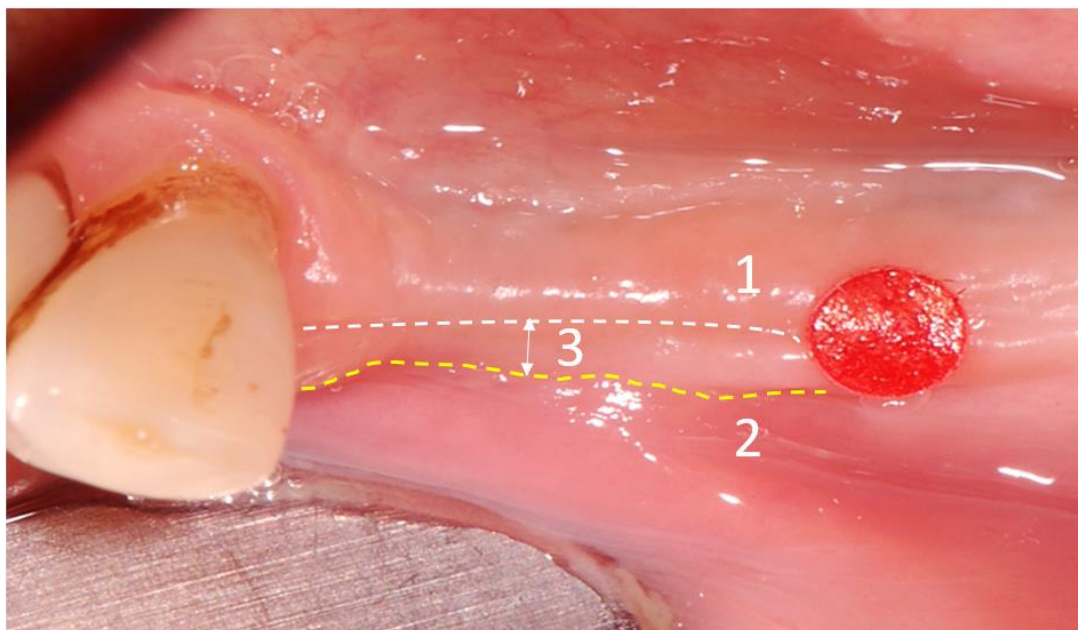
Позиционирование и освещение объектов съёмки были постоянными на всех фотографиях. Фотографирование проводилось с одинакового фокусного расстояния с использованием штатива.

2) Измерение ширины прикрепленной десны с использованием инструментария.

Ширина зоны прикрепленной десны измерялась при помощи пародонтологического калиброванного зонда от мукогингивального соединения до складки (валика) по центру в проекции имплантата (рисунок 46).

Используя данные стандартного шаблона, расположенного на десне, в программе открытого доступа ImageJ, производилось наложение и форматирование фотографий и с помощью инструмента «линейка» (analyze, measure) измерения увеличения ширины мягких тканей. Полученное цифровое

значение (в у.е.) переводилось в необходимое измерение (мм). Ширина кератинизированной десны измерялась в миллиметрах (мм).



1 – срединная проекция имплантата; 2 – мукогингивальная граница, определенная методом валика; 3 – ширина прикрепленной кератинизированной десны.

Рисунок 46 – Измерение ширины прикрепленной кератинизированной десны

3) Метод «десневого» валика

Метод «десневого» валика является стандартным методом исследования в пародонтологии для определения расположения мукогингивальной границы. Н. Wolf et al. (2003) описывают данный тест, как пальцевое или инструментальное надавливание (пародонтологический зонд, стоматологический шпатель) на подвижную слизистую оболочку, смещая ее в корональном направлении [2; 180]. По данным Shantipriya (2018) этот тест показывает наличие прикрепленной десны, которая отвечает сопротивлением и не сдвигается (рисунок 47) [151].

Для того, чтобы провести данное исследование используется стоматологический шпатель для создания складки слизистой и измерения ширины десны с применением метода валика.



Рисунок 47 – Метод «десневого» валика

На нижней челюсти ширина десны определяется мукогингивальной границей. Измерение проводится перпендикулярно мукогингивальной границе от язычной до вестибулярной поверхности.

На верхней челюсти ширина десны определяется исходя из положения имплантата в правильной ортопедической позиции. Передней границей является мукогингивальная граница, а задней границей является середина позиционированного имплантата (так как на твердом небе нет возможности точного определения мукогингивальной границы).

В качестве основного показателя безопасности лечения с использованием технологии неабляционного лазерного фототермолиза служило отсутствие нежелательных эффектов за исключением обычных явлений воздействия лазерного излучения на мягкие ткани полости рта, таких как незначительные боль, кровотечение или отек, а также кратковременное воспаление в области клинического воздействия. Нежелательные явления оценивались на основании жалоб пациента и клинического осмотра.

3.2 Методика фракционной лазерной микрокоагуляции в зоне дентальных имплантатов

Всем включенным в исследование пациентам, после оценки базовых параметров, проводилось 4 сеанса фракционной лазерной терапии по выше описанной методике. Интервалы между обработками составили от 2 до 4 недель. Контрольные обследования осуществлялись по следующему графику:

- 1) Через 3 месяца после последней обработки (обязательный визит).
- 2) Через 1, 6 и 9 месяцев после последней обработки (дополнительные визиты; по клиническим показаниям).

До начала лечения проводилась клиническая оценка и фотографирование локализаций полости рта пациента, которые будут подвергнуты лазерной обработке. Визуальное исследование пациентов на наличие отеков (воспаление, изменение цвета, некроз, и т.д.) и болей проводилось сразу после каждой обработки, и через 3 дня после обработки.

Лазерные воздействия выполнялись под аппликационной анестезией (гель «Дисилан»). Обработка десны лазером проводилась в нескольких зонах в виде параллельных рядов: сначала по мукогингивальной границе в зоне имплантации и далее распространяясь на не прикрепленную слизистую с коэффициентом заполнения колонками – порядка 15-30% в каждом ряду (рисунок 48).

Коэффициент заполнения для каждого пациента был определен на основе анализа фотоснимков, и, как правило, соответствовал расстоянию между краями микрокоагуляционной колонны (точка), равному диаметру точки.

Данные записывались в регистрационную карту пациента (размер коагуляционных колонок, их число и площадь измерялись с помощью программного обеспечения Image J).

Красный шаблон артикуляционной бумаги на десне играл роль эталонного размера. На каждом участке тканей формировалось в среднем по

5-10 микрокоагуляционных колонок на 1 мм². Диодный наконечник лазера устанавливался строго перпендикулярно поверхности слизистой оболочки.

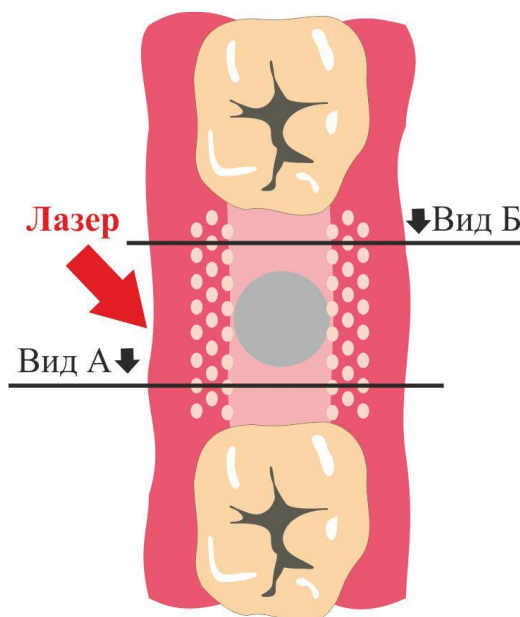


Рисунок 48 – Схема проведения лазерной обработки в области имплантата

Фракционная лазерная терапия производилась при помощи диодного лазера с длиной волны 1550 нм при установке максимальной энергии, вызывающе минимальные болевые ощущения у пациента, с покрытием пораженной зоны точками обработки (микрокоагуляционными колонками) 10-30% (не менее 8 колонок на 1 мм²). Обработка начиналась с энергии 130 мДж в импульсе, если пациент не мог терпеть обработку при данных параметрах, то происходило снижение энергии на 10 мДж до тех пор, пока пациент не чувствовал себя комфортно (рисунок 49).

Обработка мягких тканей проводилась путем перемещения наконечника при работе лазера в импульсно-периодическом режиме с частотой следования импульсов 1-5 Гц. Скорость перемещения наконечника и частота импульсов подбирались индивидуально для каждого пациента в зависимости от наличия и интенсивности болевых ощущений.

На каждом визите проводилась клиническая оценка и фотографирование зон лазерного воздействия на слизистой оболочке полости рта.

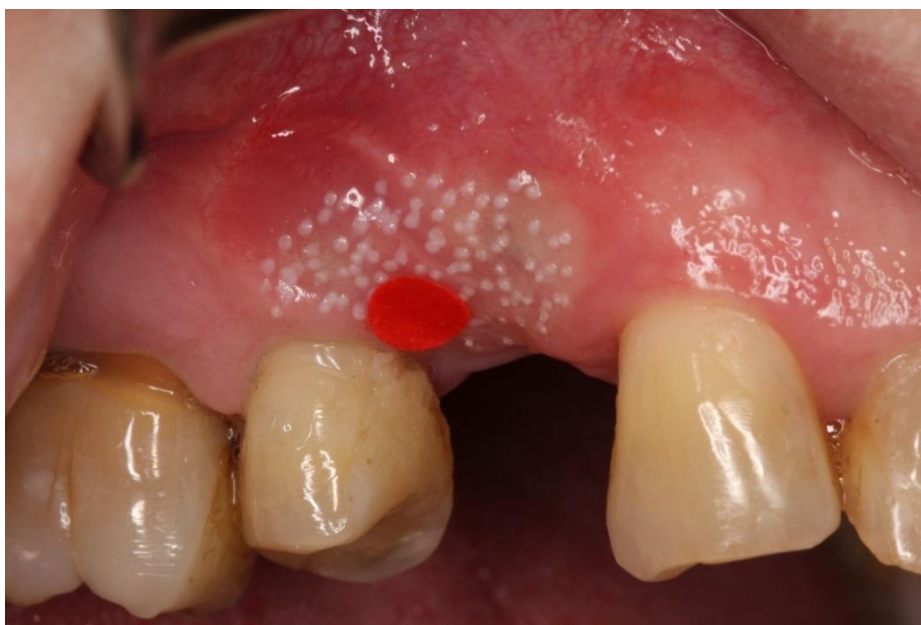


Рисунок 49 – Вид тканей сразу после лазерной обработки.

На десне видны следы от микрокоагуляционных колонн

Производился постоянный контроль жалоб и общего состояния пациентов с целью выявления любых нежелательных явлений в течении исследования, как связанных с проводимым лазерным воздействием на слизистую оболочку полости рта, так и не связанную с ним. Пациенты были проинструктированы о необходимости немедленно связываться с врачом в случае возникновения любых нежелательных явлений, либо подозрений на них.

С целью анализа уровня болевой чувствительности во время проведения процедуры фракционной лазерной микрокоагуляции была использована визуально-аналоговая шкала (Visual Analog scale, Huskisson E., 1974) (рисунок 50).

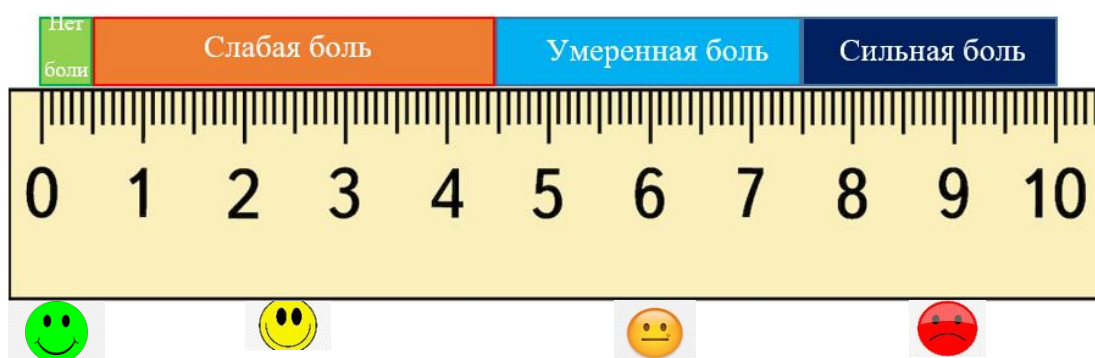


Рисунок 50 – Вид визуально-аналоговой шкалы

Данная шкала представлена в виде горизонтальной шкалы длиной 10 см (100 мм) и ограничена двумя крайними точками: «отсутствие боли» и «сильнейшая боль, какую можно только представить». Пациенту предлагалось отметить точку на данной шкале, где 0-0,5 см – нет боли, 0,5-4,5 см – слабая боль, 4,5-7,5 см – умеренная боль, 7,5-10 см – сильная боль. Оценка уровня боли производилась после каждой лазерной обработки и заносилась в Индивидуальную Регистрационную Карту пациента.

3.3 Методы статистической обработки данных

Данные клинических исследований объединены в электронную базу данных Microsoft Excel 2016. Статистический анализ полученных данных произведен с помощью программы MedCalc®v.19.1.3. Все полученные ряды данных были проверены на соответствие критериям нормального распределения с помощью теста Шапиро-Уилка, после чего для описания показателей, распределенных нормально, были использованы показатели средней величины и ошибки средней величины, а для показателей, распределение которых было отлично от нормального, – медиана и межквартильный размах. Для сравнительного анализа полученных результатов в исследуемых группах в случае нормального распределения парный t-критерий Стьюдента, в случае распределения, отличного от нормального, – критерий Wilcoxon.

Все проанализированные показатели рассчитывались с двусторонним доверительным интервалом. Достоверным принималось значение $p < 0,05$.

3.4 Результаты исследования на мягких тканях в зоне имплантации

Для оценки результатов воздействия фракционной лазерной микрокоагуляции на мягкие ткани полости рта в зоне дентальной имплантации были проанализированы следующие параметры:

- 1) Ширина кератинизированной десны на различных этапах исследования.
- 2) Изменение ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования.
- 3) Изменение ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с исходной ее шириной на этапе исходной оценки.
- 4) Изменение ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с принятой «нормой» ширины.

Кроме того, проведен сравнительный анализ всех перечисленных параметров.

Все анализируемые показатели были измерены на каждом визите пациента (этап исходной оценки, после 1 сеанса, после 2 сеанса, после 3 сеанса, после 4 сеанса и на этапе установки формирователей десневой манжетки).

3.4.1 Анализ ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования

На каждом из этапов исследования были произведены измерения ширины прикрепленной десны в зоне установленных имплантатов (таблица 2).

На этапе исходной оценки (до проведения лазерной терапии) ширина кератинизированной десны у пациентов варьировала от 0,10 до 2,00 мм, а медиана ширины составила 1,20 мм (95% ДИ 1,00-1,40).

Таблица 2 – Ширина кератинизированной десны на различных этапах исследования

Ширина кератинизированной десны	Исходная оценка	После 1 сеанса	После 2 сеанса	После 3 сеанса	После 4 сеанса	Установка ФДМ
Ширина, мм: M±m (95% ДИ)	1,21±0,07 (1,07-1,35)	1,43±0,07 (1,28-1,57)	1,56±0,08 (1,43-1,74)	1,80±0,08 (1,64±1,97)	1,95±0,08 (1,79-2,10)	2,06±0,08 (1,90-2,23)
Ширина, мм: Me; Q25-Q75	1,20 (1,00-1,40)	1,50 (1,20-1,60)	1,60 (1,39-1,80)	1,85 (1,69-2,00)	2,00 (1,89-2,10)	2,05 (1,90-2,20)

Ширина десны после 1 сеанса терапии была в диапазоне от 0,10 до 2,60 мм и, в среднем, составила 1,43±0,07 мм (95% ДИ 1,28-1,57). После 2 сеанса терапии ширина тканей варьировала от 0,10 до 3,00 мм и, в среднем, составила 1,56±0,08 мм (95% ДИ 1,43-1,74). После 3 сеанса терапии ширина кератинизированной десны варьировала от 0,20 до 3,30 мм и, в среднем, составила 1,80±0,08 мм (95% ДИ 1,64-1,97). После 4 сеанса терапии ширина кератинизированной десны варьировала от 0,20 до 3,30 и, в среднем, составила 1,95±0,08 мм (95% ДИ 1,79-2,10).

На последнем этапе оценивания (этап установки формирователя десневой манжетки) ширина кератинизированной десны варьировала от 0,20 до 3,60 мм, и медиана ширины составила 2,06±0,08 мм (95% ДИ 1,90-2,23).

3.4.2 Анализ изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования

Следующим этапом анализа было изучение параметра изменения ширины прикрепленной десны в зоне имплантации на различных этапах исследования.

Было произведено анализ ширины тканей на каждом из этапов в сравнении с предыдущим (таблица 3).

Таблица 3 – Изменение ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования

Изменение ширины кератинизированной десны	1 сеанс – исходная оценка	Δ 2 сеанс – 1 сеанс	Δ 3 сеанс – 2 сеанс	Δ 4 сеанс – 3 сеанс	Δ установка ФДМ – 4 сеанс
Δ ширины, мм: M±m (95% ДИ)	0,22±0,03 (0,16-0,27)	0,16±0,02 (0,12-0,21)	0,22±0,03 (0,16-0,27)	0,14±0,03 (0,08±0,2)	0,12±0,02 (1,79-0,16)
Δ ширины, мм: Me; Q25-Q75	0,20 (0,10-0,20)	0,15 (0,10-0,20)	0,20 (0,10-0,30)	0,10 (0,00-0,20)	0,10 (0,00-0,10)

Изменение ширины кератинизированной десны после 1 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки (до проведения лазерной терапии) варьировало от -0,10 до 0,90, а медиана увеличения ширины составила 0,20 мм (95% ДИ 0,10-0,20). Изменение ширины тканей после 2 сеанса терапии в сравнении с 1 сеансом было в диапазоне от -0,20 до 0,70, а медиана увеличения составила 0,15 мм (95% ДИ 0,10-0,20). При сравнении ширины десны после 3 сеанса терапии со 2 сеансом были получены данные от -0,30 до 0,70 и, в среднем, ширина составила 0,22±0,03 мм (95% ДИ 0,16-0,27).

Изменение ширины кератинизированной десны после 4 сеанса терапии с данным показателем после 3 сеанса варьировало от -0,40 до 1,40, а медиана увеличения ширины составила 0,10 мм (95% ДИ 0,00-0,20). На последнем этапе (установка формирователей десневой манжетки) по сравнению с 4 сеансом были получены данные в диапазоне от -0,10 до 0,90, и в среднем увеличение ширины на данном этапе было на 0,10 мм (95% ДИ 0,00-0,10).

**3.4.3 Анализ изменений ширины кератинизированной десны
на различных этапах исследования в сравнении с исходной шириной
до проведения лазерной терапии**

На данном этапе стояла задача сравнить ширину прикреплённой десны на каждом из этапов исследования с данными ее исходной оценки до проведения лазерной терапии (таблица 4).

Таблица 4 – Изменение ширины кератинизированной десны в сравнении с данными исходной оценки

Изменение ширины кератинизированной десны	1 сеанс – исходная оценка	Δ 2 сеанс – исходная оценка	Δ 3 сеанс – исходная оценка	Δ 4 сеанс – исходная оценка	Δ установка ФДМ – исходная оценка
Δ ширины, мм: M±m (95% ДИ)	0,22±0,03 (0,16-0,27)	0,38±0,04 (0,31-0,45)	0,60±0,04 (0,51-0,68)	0,74±0,05 (0,64±0,83)	0,86±0,05 (0,75-0,96)
Δ ширины, мм: Me; Q25-Q75	0,20 (0,10-0,20)	0,30 (0,30-0,50)	0,55 (0,50-0,70)	0,70 (0,60-0,81)	0,90 (0,80-0,90)

Ширина прикреплённой кератинизированной десны после 1 сеанса по сравнению с исходными данными до лазерной терапии варьировала в диапазоне от -0,10 до 0,90, а медиана увеличения ширины составила 0,20 мм (95% ДИ 0,10-0,20). Сравнение ширины тканей после 2 сеанса терапии с данными исходной оценки показало вариацию от 0,00 до 1,10, и в среднем увеличение ширины составило 0,30 мм (95% ДИ 0,30-0,50). После 3 сеанса терапии в сравнении с исходной оценкой ширина тканей была в диапазоне от 0,10 до 1,80 и, в среднем, составила 0,60±0,04 мм (95% ДИ 0,51-0,68). Сравнение ширины мягких тканей после 4 сеанса терапии с исходными данными варьировало от 0,10 до 1,80,

а медиана увеличения ширины тканей составила 0,70 мм (95% ДИ 0,60-0,81). На последнем этапе установки формирователей десневой манжетки в сравнении с исходной оценкой ширина тканей варьировала от 0,10 до 2,10, а медиана увеличения ширины составила 0,90 мм (95% ДИ 0,80-0,90).

3.4.4 Анализа изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с «нормой» ширины

В качестве основного показателя эффективности проведения фракционной лазерной терапии был принят стандартный критерий Lang & Loe's. Данный критерий показал, что при ширине прикрепленной кератинизированной десны более 2 мм возможно сохранить долговременную стабильность и здоровье дентального имплантата. Поэтому за понятие «нормы» было принято значение превышающее данный критерий, то есть ширина 2,1 мм и более.

Был выполнен анализ изменений ширины прикрепленной десны на различных контрольных точках исследования в сравнении с «нормой» ширины (таблица 5).

Таблица 5 – ширина кератинизированной десны на различных этапах оценки в сравнении с «нормой»

Изменение ширины кератинизированной десны	Исходная оценка – норма	1 сеанс – норма	Δ 2 сеанс – норма	Δ 3 сеанс – норма	Δ 4 сеанс – норма	Δ установка ФДМ – норма
Δ ширины, мм: M±m (95% ДИ)	-0,89±0,07 (-1,03-0,75)	-0,68±0,07 (-0,82-0,53)	-0,51±0,08 (-0,67-0,35)	-0,30±0,08 (-0,46-0,13)	-0,16±0,08 (-0,31-0,00)	-0,04±0,08 (-0,20-0,13)
Δ ширины, мм: Me; Q25-Q75	-0,90 (-1,10-0,70)	-0,60 (-0,90-0,50)	-0,50 (-0,71-0,30)	-0,25 (-0,41-0,10)	-0,10 (-0,21-0,00)	-0,05 (-0,20-0,10)

На этапе исходной оценки до проведения лазерной терапии ширина кератинизированной десны была достоверно меньше «нормы» ($U=49,0$; $Z=-9,490$; $p<0,0001$), разность варьировала от -2,00 до -0,10 мм, и среднем составляла -0,90 мм (95% ДИ -1,10 – -0,70) (рисунок 51).

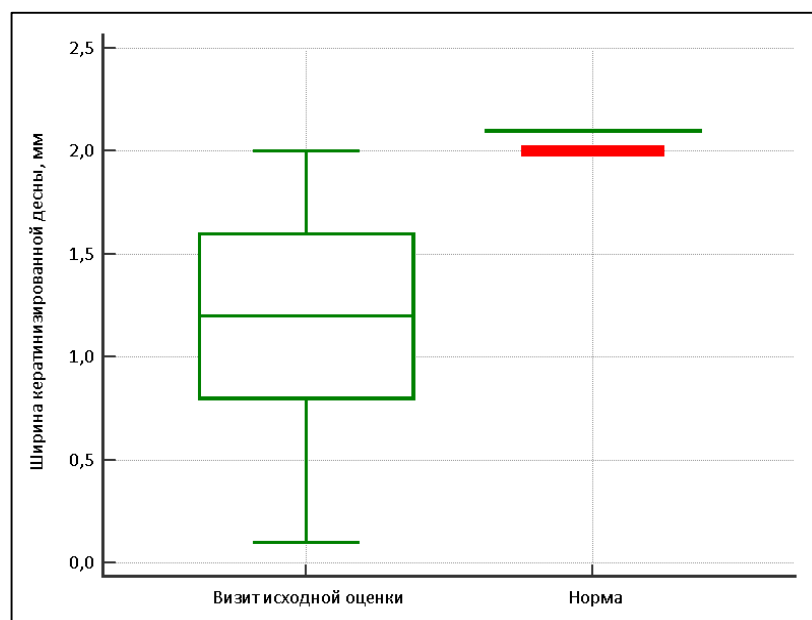


Рисунок 51 – Ширина прикрепленной десны на этапе исходной оценки в сравнении с «нормой»

После 1 сеанса лазерной обработки ширина кератинизированной десны была также достоверно меньше «нормы» ($U=589,0$; $Z=-6,586$; $p<0,0001$), разность была в диапазоне от -2,00 до 0,50 мм и в среднем составляла $-0,68 \pm 0,07$ мм (95% ДИ -0,83 – -0,53) (рисунок 52).

После 2 сеанса лазерной терапии ширина кератинизированной десны была достоверно меньше «нормы» ($U=829,0$; $Z=-5,280$; $p<0,0001$), разность показателей была от -2,00 до 0,90 мм и в среднем составила $-0,51 \pm 0,08$ мм (95% ДИ -0,67 – -0,35) (рисунок 53).

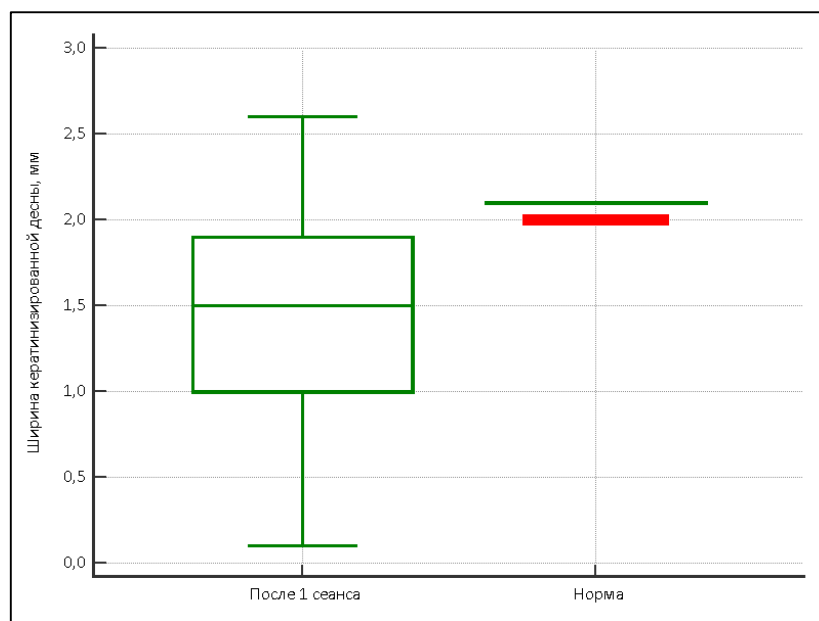


Рисунок 52 – Ширина тканей после 1 сеанса терапии в сравнении с «нормой»

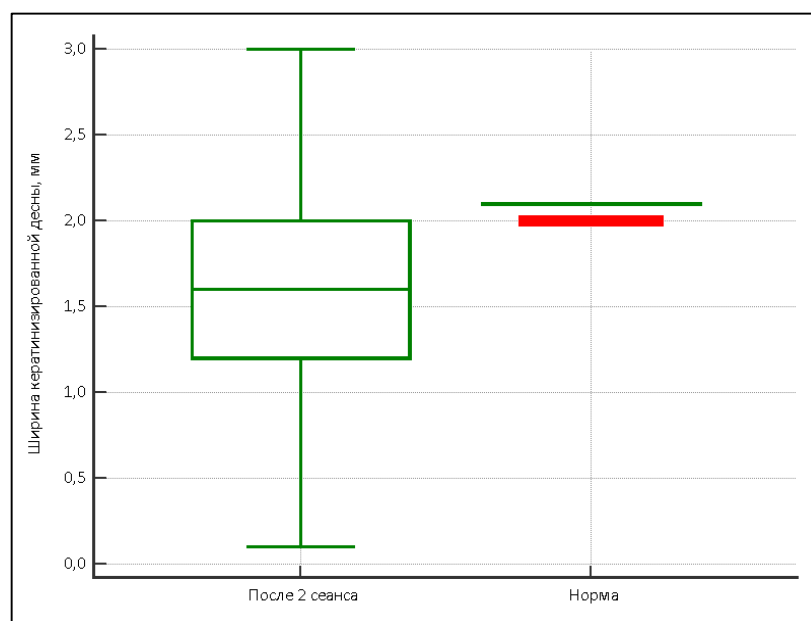


Рисунок 53 – Ширина мягких тканей после 2 сеанса терапии
в сравнении с «нормой»

После 3 сеанса лазерного воздействия ширина кератинизированных тканей была также достоверно меньше «нормы» ($U=1118,0$; $Z=-3,733$; $p=0,0002$), разность варьировала от -1,90 до 1,20 мм и в среднем составляла $-0,30 \pm 0,08$ мм (95% ДИ -0,46 – -0,13) (рисунок 54).

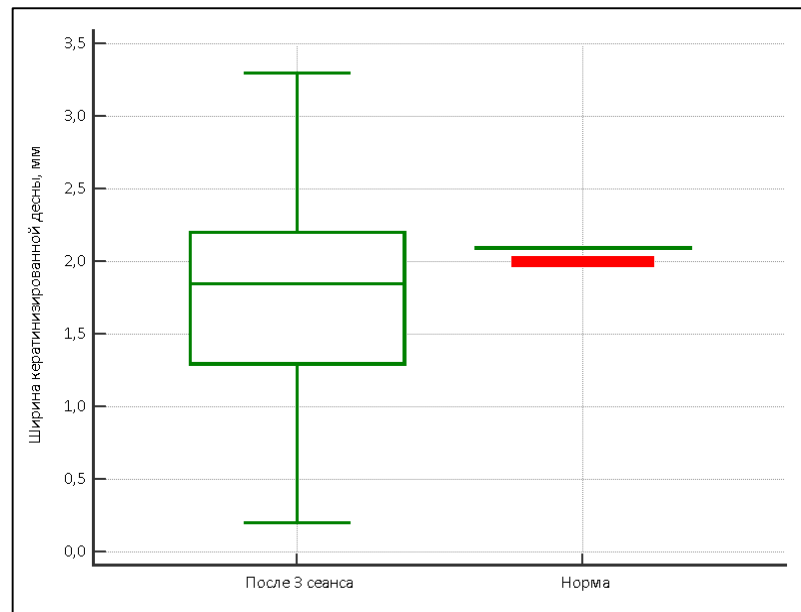


Рисунок 54 – Ширина прикрепленной десны после 3 сеанса терапии
в сравнении с «нормой»

После 4 сеанса терапии ширина прикрепленной десны от «нормы» не отличалась ($U=1538,0$; $Z=-1,440$; $p=0,1499$), в среднем разность показателей составила $-0,16 \pm 0,08$ мм (95% ДИ $-0,31 - 0,00$), а данные варьировали в диапазоне от $-1,90$ до $1,20$ мм (рисунок 55).

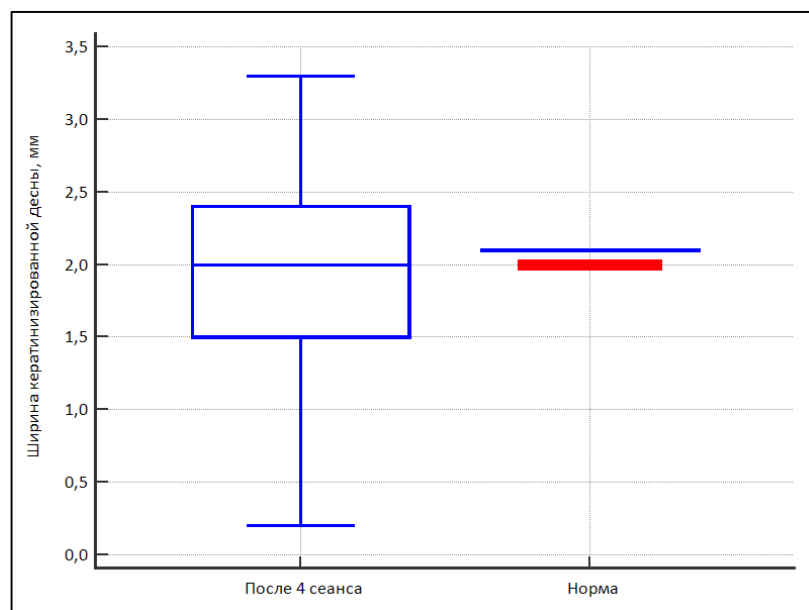


Рисунок 55 – Ширина прикрепленной десны после 4 сеанса терапии
в сравнении с «нормой»

На последнем этапе (установки формирователей десневой манжетки) ширина кератинизированной десны от «нормы» также не отличалась ($U=1750,0$; $Z=-0,273$; $p=0,7847$) (рисунок 56).

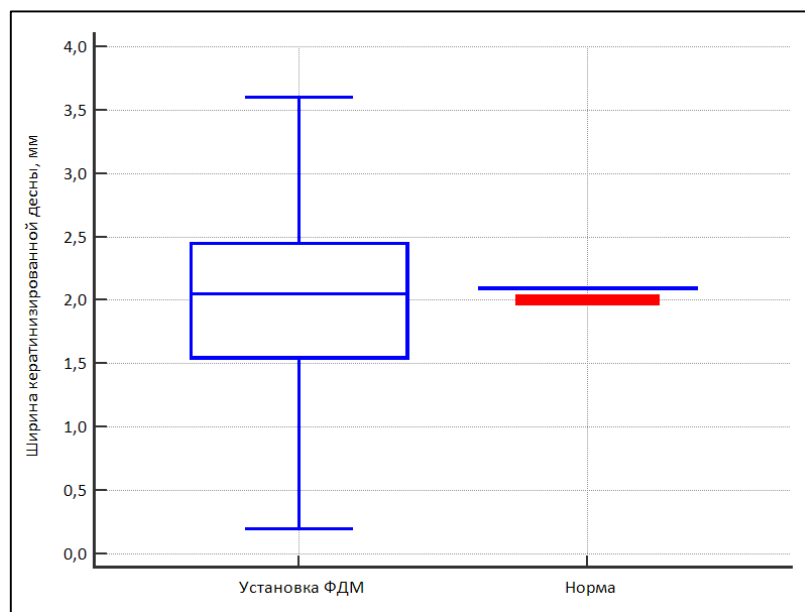


Рисунок 56 – Ширина десны на этапе установки формирователей десневой манжетки в сравнении с «нормой»

Разность показателей была в диапазоне от -1,90 до 1,50 мм и в среднем составила $-0,04 \pm 0,08$ мм (95% ДИ -0,30-0,13).

3.4.6 Сравнительный анализ изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования

При сравнении ширины прикрепленной кератинизированной десны после 1 сеанса терапии с шириной на этапе исходной оценки, данный показатель достоверно увеличился ($Z=-6,073$; $p<0,0001$) (рисунок 57).

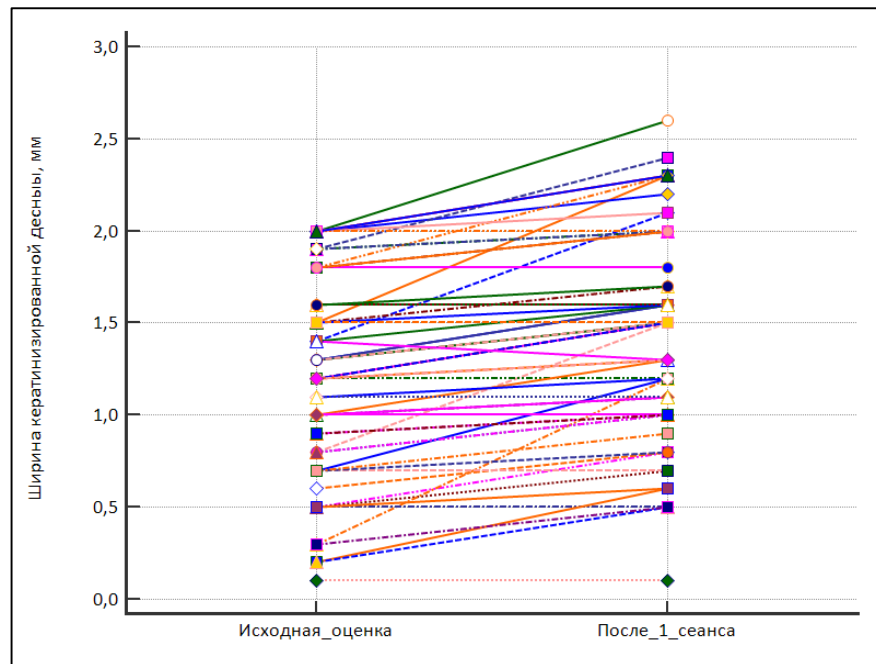


Рисунок 57 – Изменение ширины прикрепленной десны после 1 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки

После 2 сеанса лазерной терапии в сравнении с 1 сеансом терапии ширина десны также достоверно увеличилась ($Z=-5,077$; $p<0,0001$) (рисунок 58).

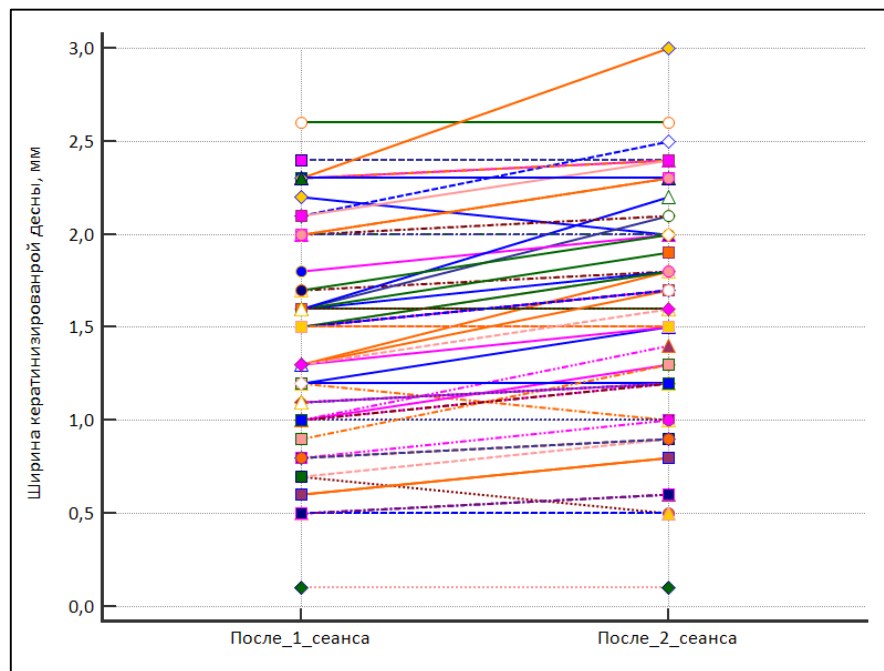


Рисунок 58 – Изменение ширины кератинизированной десны после 2 сеанса терапии в сравнении с 1 сеансом терапии

При сравнении ширины тканей после 3 сеанса лазерной терапии с шириной тканей после 2 сеанса терапии, данный показатель достоверно увеличился ($Z=-5,323$; $p<0,0001$) (рисунок 59).

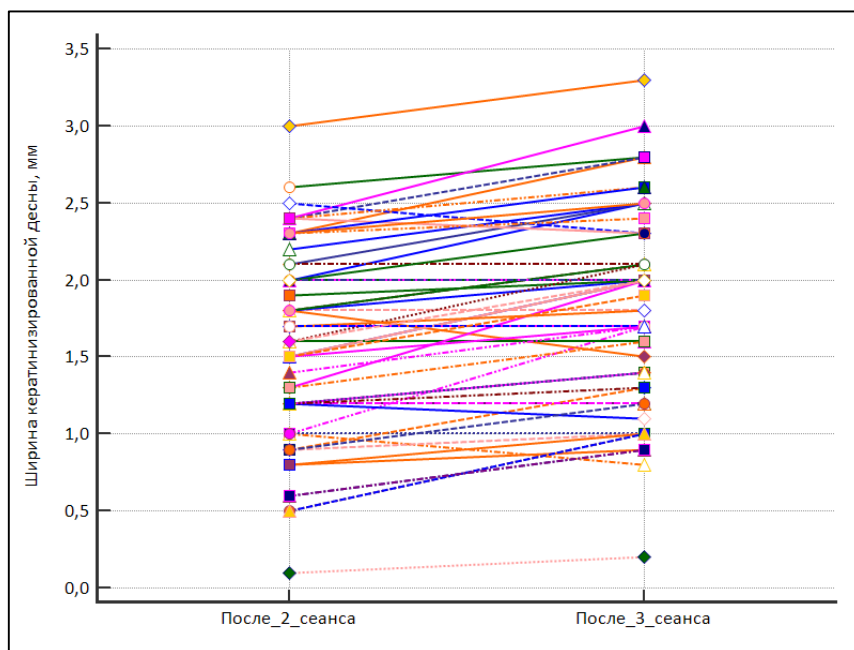


Рисунок 59 – Изменение ширины десны после 3 сеанса терапии в сравнении с этапом после 2 сеанса терапии

После 4 сеанса лазерной терапии в сравнении с 3 сеансом ширина кератинизированной десны также достоверно увеличилась ($Z=-4,343$; $p<0,0001$) (рисунок 60).

На последней этапе установки формирователей десневой манжетки ширина тканей также достоверно увеличилась по сравнению с шириной после 4 сеанса терапии ($Z=-4,902$; $p<0,0001$) (рисунок 61).

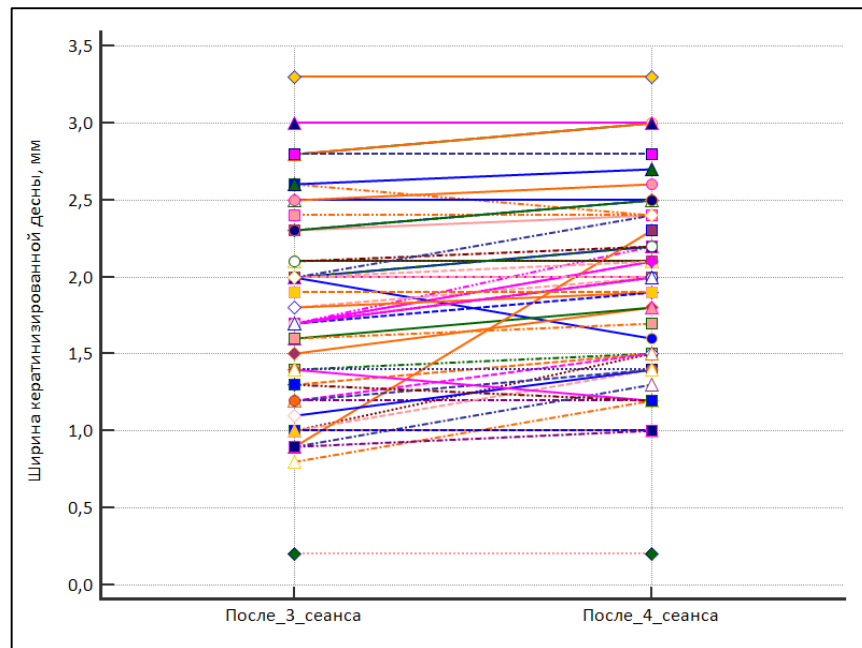


Рисунок 60 – Изменение ширины кератинизированной десны после 4 сеанса терапии в сравнении с 3 сеансом терапии

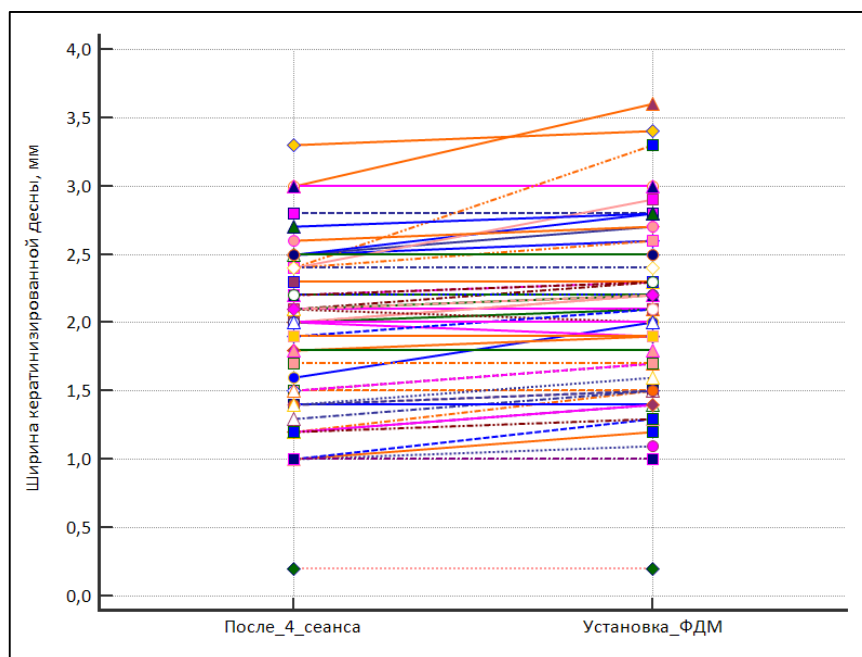


Рисунок 61 – Изменение ширины кератинизированной десны на этапе установки формирователей десневой манжетки в сравнении с 4 сеансом терапии

3.4.7 Сравнительный анализ изменений ширины прикрепленной десны на различных этапах исследования с этапом исходной оценки (до проведения лазерной терапии)

При проведении сравнительного анализа изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования с шириной тканей на этапе исходной оценки (до проведения лазерной терапии) нами были получены следующие результаты.

После 1 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки ширина прикрепленной десны достоверно увеличилась ($Z=-6,073$; $p<0,0001$) (рисунок 62).

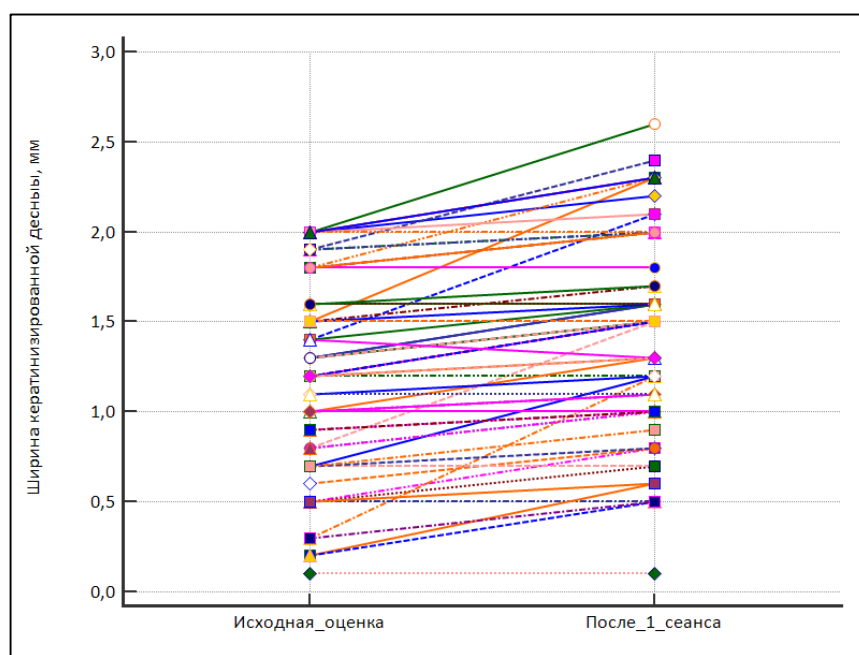


Рисунок 62 – Изменение ширины кератинизированной десны после 1 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки

При сравнении ширины десны после 2 сеанса терапии с этапом исходной оценки данный параметр также достоверно увеличился ($Z=-6,334$; $p<0,0001$) (рисунок 63).

После 3 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки ширина десны также достоверно увеличилась ($Z=-6,624$; $p<0,0001$) (рисунок 64).

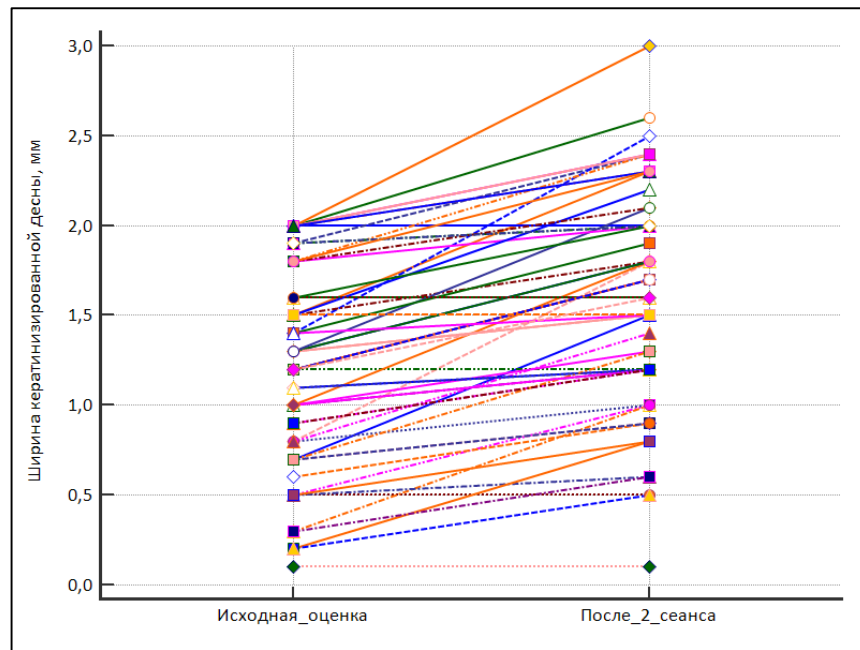


Рисунок 63 – Изменение ширины кератинизированной десны после 2 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки

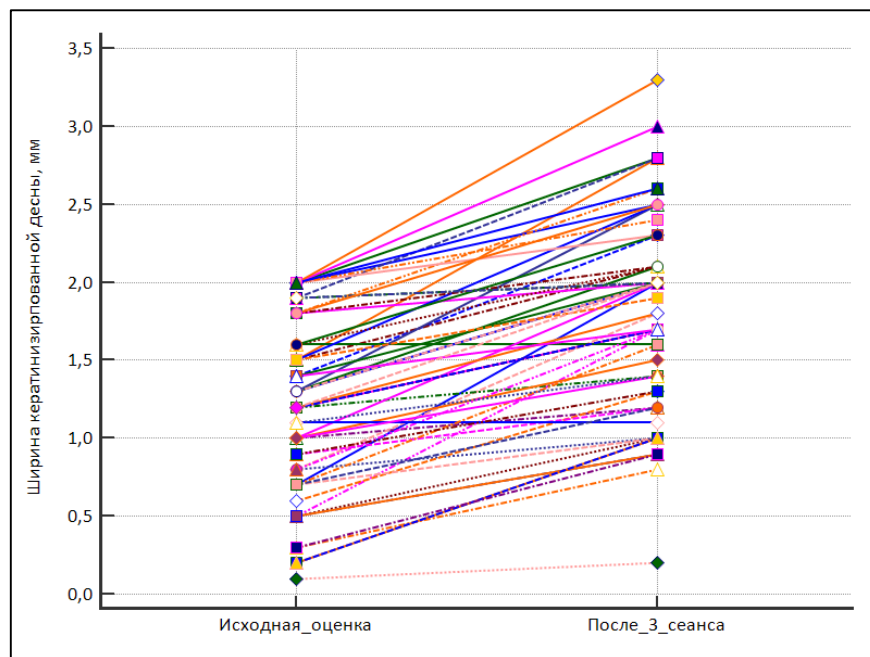


Рисунок 64 – Изменение ширины кератинизированной десны после 3 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки

После 4 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки ширина кератинизированной десны достоверно увеличилась ($Z=-6,736$; $p<0,0001$) (рисунок 65).

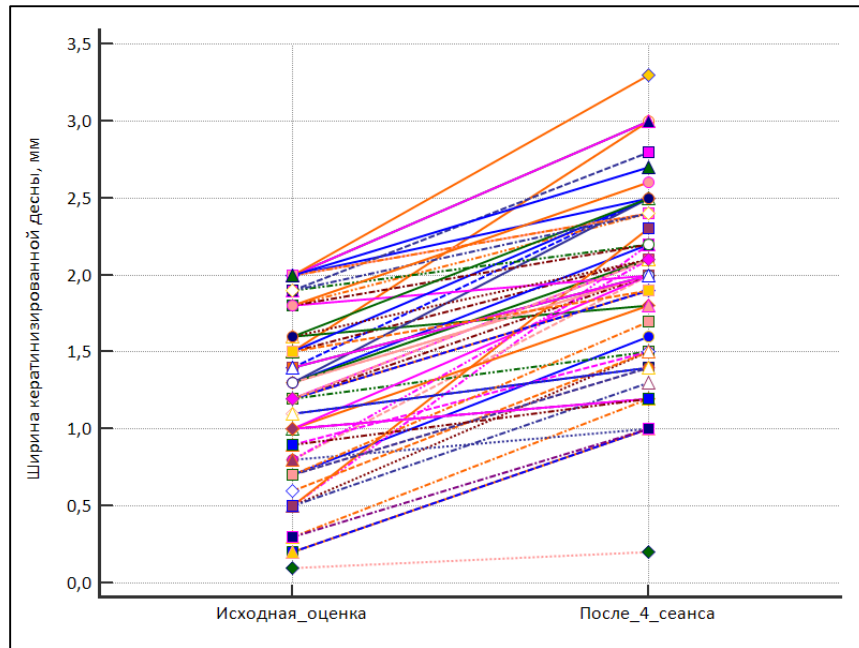


Рисунок 65 – Изменение ширины кератинизированной десны после 4 сеанса терапии в сравнении с этапом исходной оценки

На последнем этапе ширина прикрепленной десны в сравнении с шириной тканей на этапе исходной оценки также достоверно увеличивалась ($Z=-6,736$; $p<0,0001$) (рисунок 66).

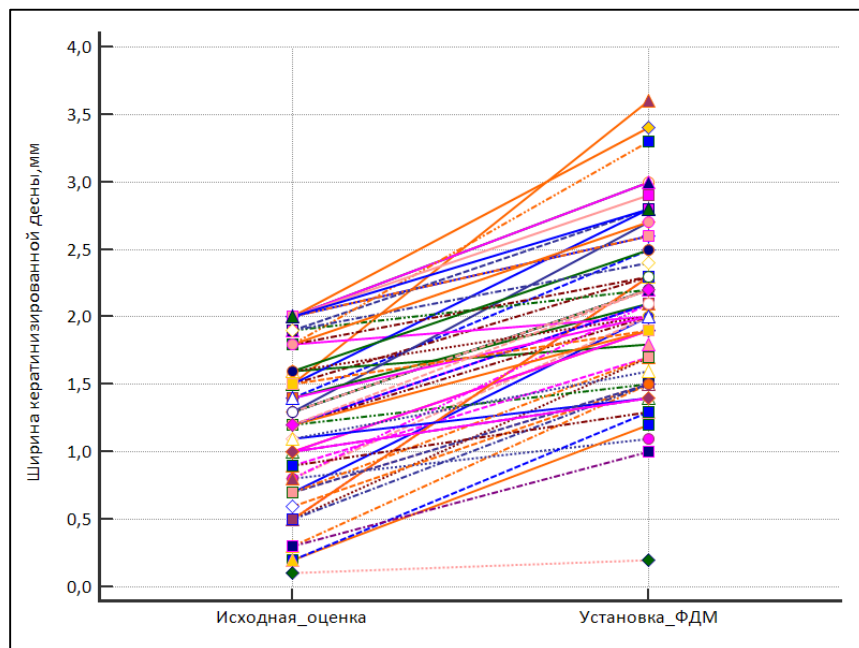


Рисунок 66 – Изменение ширины кератинизированной десны на этапе установки формирователей десневой манжетки в сравнении с исходной оценкой

3.4.8 Анализ болевой чувствительности во время процедуры фракционной лазерной микрокоагуляции

Каждый сеанс пациентам проводилось анализ степени болезненности процедуры лазерной терапии путем анкетирования с использованием визуально-аналоговой шкалы. Пациенту предлагалось отметить точку на шкале от 0 до 10 см. Оценка уровня боли производилась после каждой лазерной обработки и заносилась в Индивидуальную Регистрационную Карту пациента.

Безболезненность процедуры отметили большинство пациентов: 49 (81,7%) из 60, слабую боль отметили 10 (16,7%) пациентов из 60 и описывали ее, как ощущение покалывания или небольшого жжения ($p < 0,0001$). В одном случае из 60 (1,7%) отмечалась умеренная боль на всех четырех сеансах лазерной терапии и вместо аппликационной анестезии была использована инфильтрационная (рисунок 67).

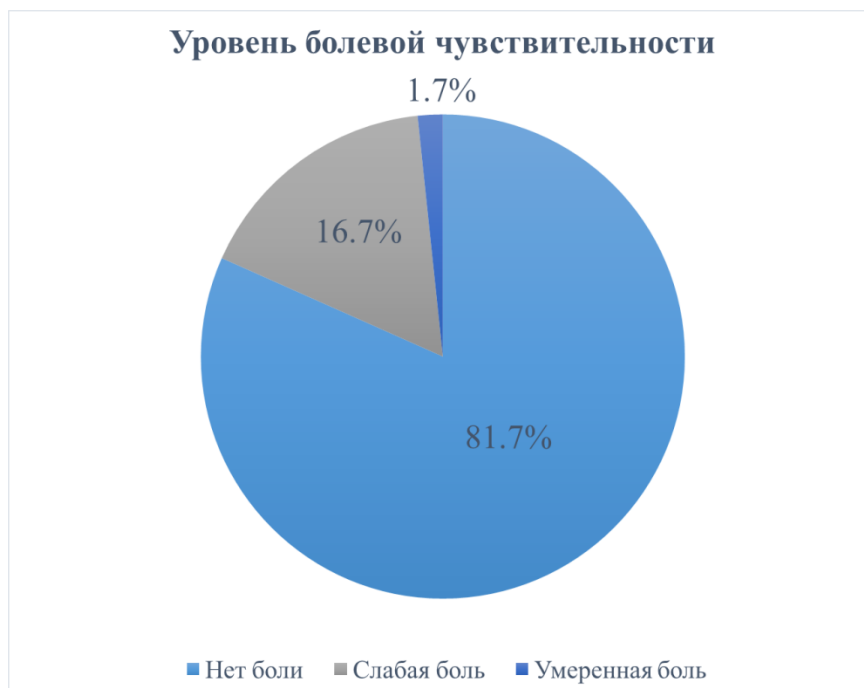


Рисунок 67 – Уровень болевой чувствительности у пациентов во время процедуры неабляционной лазерной микрокоагуляции в зоне дентальных имплантатов

Ни в одном случае не было отмечено сильной боли во время проведения лазерной терапии ($p=0,0009$).

3.4.9 Анализ целесообразности проведения установки формирователей десневой манжетки без дополнительной мягкотканой аугментации

По стандартному критерию Lang & Loe's считается, что ширина прикрепленной кератинизированной десны 2 мм и более является оптимальной для сохранения долговременной стабильности и здоровья дентального имплантата.

Были произведены измерения и оценка ширины прикрепленной кератинизированной десны на каждом из этапов исследования. Если удавалось достичь данной ширины тканей у пациентов с изначальным дефицитом прикрепленной кератинизированной десны вокруг дентальных имплантатов (2 мм и менее), то не производилась дополнительная мягкотканая аугментация, пациентам устанавливали формирователи десневой манжетки и направляли на дальнейшее протезирование. Если необходимой ширины прикрепленной кератинизированной десны не удавалось достичь с использованием технологии неабляционного лазерного фототермолиза, то пациентам было рекомендовано произвести пластику десны в зоне дентальных имплантатов. Принятие решения о методе мягкотканой аугментации, с единовременной установкой формирователей десневой манжетки или без нее осуществлялось хирургом-стоматологом, который производил имплантацию в данной зоне.

36 пациентам из 60 (60%) удалось достичь необходимой ширины прикрепленной кератинизированной десны (2 мм и более) после проведения лазерной терапии, поэтому данной группе пациентов производилась установка формирователей десневой манжетки без дополнительной мягкотканой аугментации вокруг имплантатов (рисунок 68).

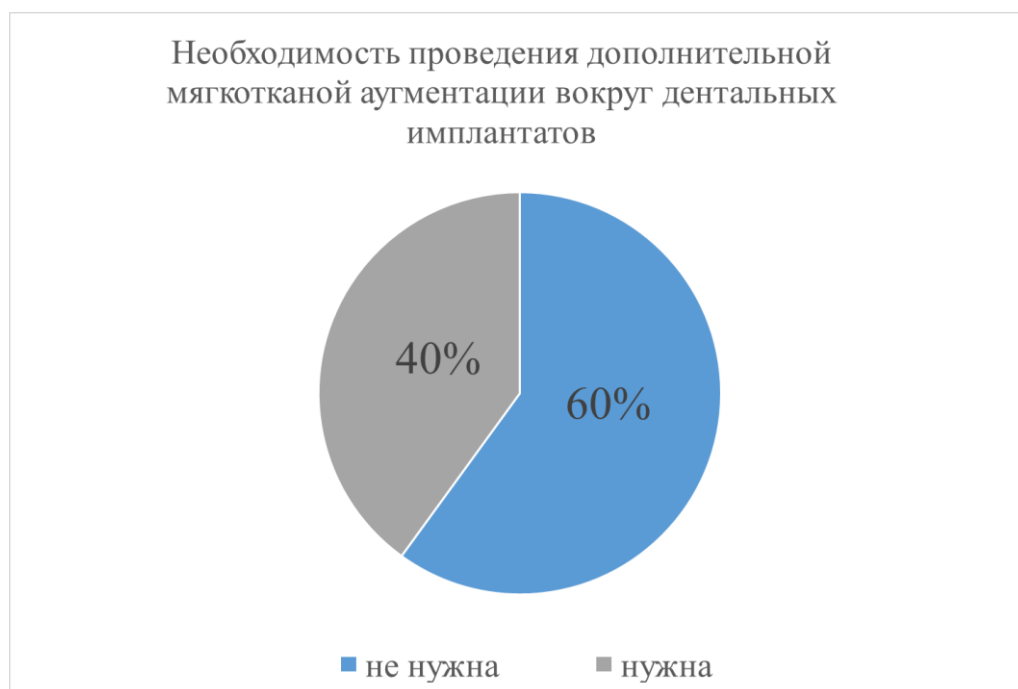


Рисунок 68 – Оценка необходимости проведения дополнительной мягкотканой аугментации в зоне дентальных имплантатов

24 пациентам из 60 (40%) было рекомендовано произвести пластику десны вокруг дентальных имплантатов по причине отсутствия необходимой ширины мягких тканей вокруг дентальных имплантатов.

3.5 Клинические примеры

Клинический пример 1.

Пациентка Л., 58 л. Обратилась с жалобами на отсутствие зубов на нижней челюсти слева. Результаты оценивались по фотографическим данным.

Диагноз: отсутствие зубов 3.4, 3.5, 3.6, 3.7., горизонтальная и вертикальная атрофия костной ткани.

Первым этапом пациентке была проведена костная пластика в области дефекта (3.4 -3.7 зуб) с использованием аутокостных блоков. Через 6 месяцев был получен необходимый объем костной ткани для установки 3 дентальных

имплантатов на нижней челюсти слева. Произведена установка имплантатов Alpha Bio. Послеоперационный период протекал без особенностей. Через один месяц после операции пациентка пришла на контрольный осмотр, отмечается недостаточный объем прикрепленной кератинизированной десны, в особенности в зоне отсутствующего первого премоляра (рисунок 69).



Рисунок 69 – Вид мягких тканей до проведения лазерной терапии.

Отмечается недостаточный объем прикрепленной кератинизированной десны, в особенности в зоне первого премоляра 3.4.

На десне расположен стандартный шаблон 3 мм диаметром

Было принято решение о проведении неабляционной лазерной микрокоагуляции в количестве 4 сеансов в зоне дентальных имплантатов для того, чтобы постараться избежать дополнительного оперативного вмешательства на мягких тканях.

В первый сеанс проведено фотографирование, аппликационная анестезия (гель «Дисилан») и лазерная терапия со стандартным режимом обработки (энергия 130 мДж). На рисунке 70 показано схематическое расположение дентальных имплантатов, белым пунктиром показана мукогингивальная граница до проведения лечения с использованием лазера. На десне заметны следы после

лазерного воздействия, которые обычно исчезают в течении дня после обработки. Стоматологический шпатель использовался для проведения теста «десневого» валика (рисунок 70).

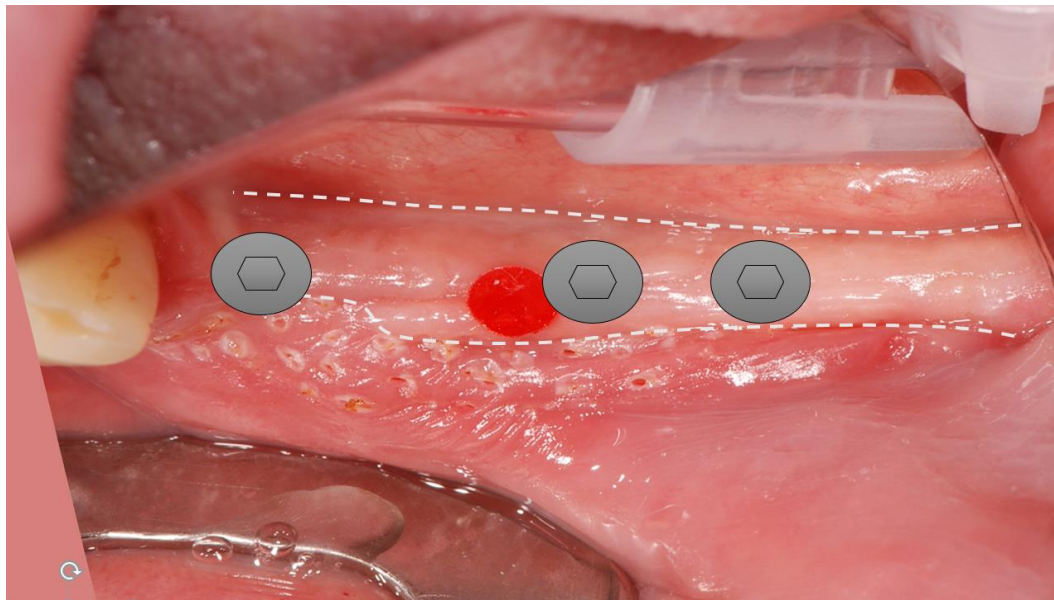


Рисунок 70 – Первый сеанс лазерной обработки.

Схематическое изображение расположения дентальных имплантатов, белый пунктир показывает мукогингивальную границу до лечения.

На десне видны следы после лазерного воздействия

Следующий сеанс был проведен через 2 недели после первого. У пациентки отсутствовали какие-либо жалобы или нежелательные явления после процедуры. Проведен фотопротокол перед вторым сеансом с одинакового фокусного расстояния и настроек фотоаппарата для точного измерения изменений со стороны десны (рисунок 71).

После процедуры также выполняется фотографирование. На десне видны следы после лазерных аппликаций, режим обработки – стандартный (рисунок 72).

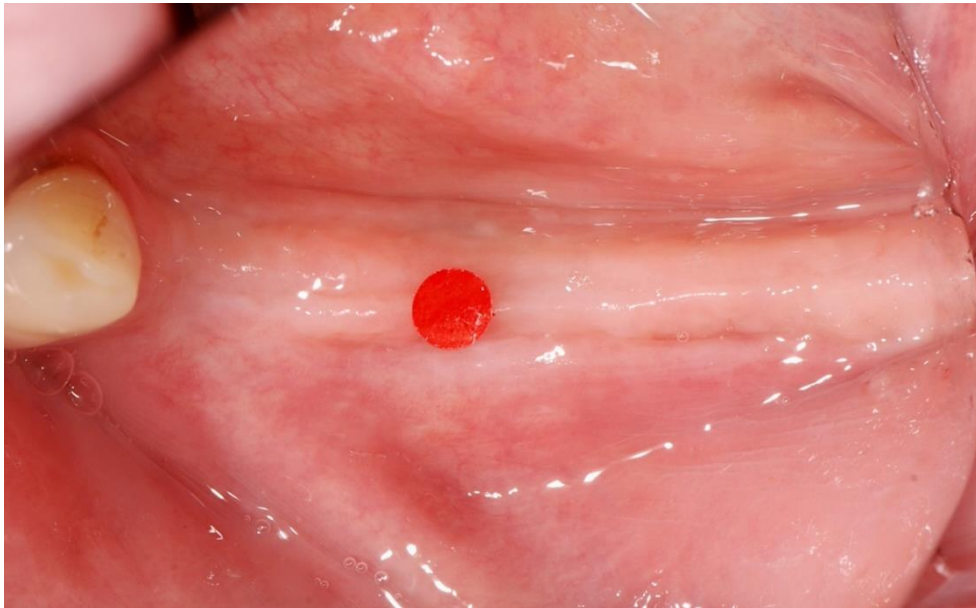


Рисунок 71 – Вид мягких тканей до 2 сеанса. На десне расположен шаблон

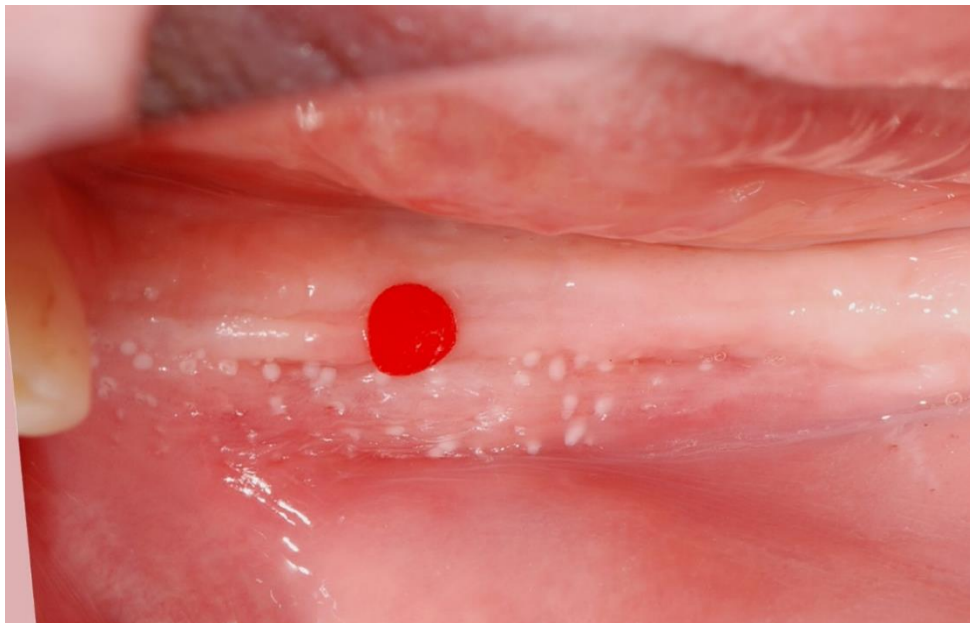


Рисунок 72 – Вид мягких тканей после 2 сеанса лазерной обработки

Третий сеанс проведен через 2 недели после второго. Во время визуального осмотра, фотографирования и применения теста «десневого» валика заметно увеличение объема прикрепленной десны в зоне дентального имплантата в позиции 3.4 (рисунок 73).

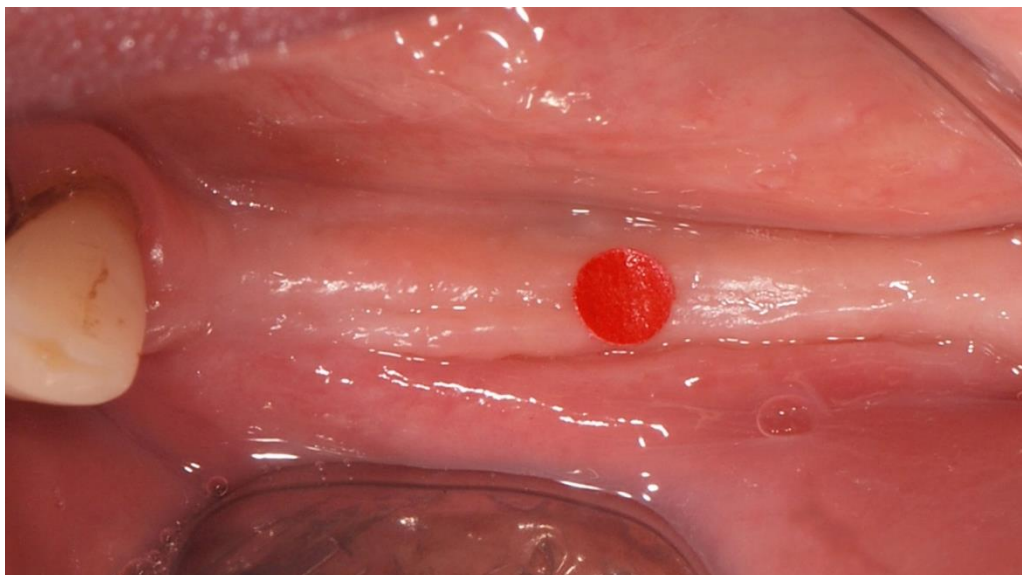


Рисунок 73 – Вид мягких тканей перед проведением 3 сеанса.
Визуально определяется увеличение объема прикрепленной десны
в области дентального имплантата 3.4

Четвертый сеанс также проведен через 2 недели после третьего. Было принято решение, что данный сеанс будет последним и через 2 недели будет произведена оценка прироста мягких тканей и решение вопроса о проведении дополнительной пластики десны или установки формирователей десневой манжетки без оперативного вмешательства на мягких тканях (рисунок 74).

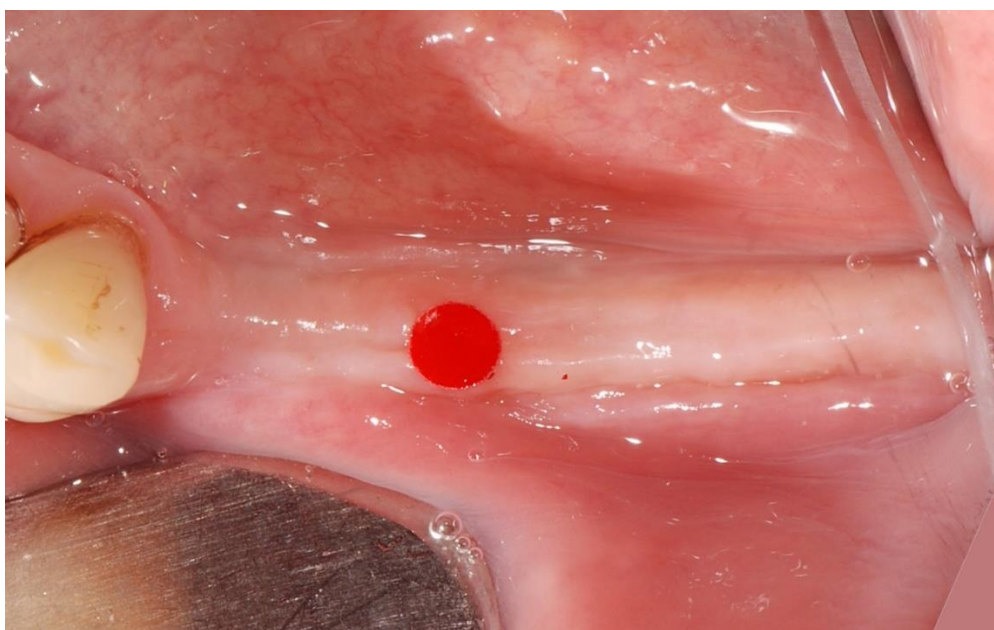


Рисунок 74 – Вид мягких тканей перед четвертым сеансом

Через 2 недели после последней обработки был проведен контрольный осмотр, произведено фотографирование и измерения прироста десны. Используя данные стандартного шаблона, расположенного на десне, в программе Image J, производилось наложение и форматирование фотографий и с помощью «линейки» измерения увеличения ширины мягких тканей. Расчеты пациентки Л. показали увеличение ширины прикрепленной кератинизированной десны в области первого премоляра на 0,8 мм за 4 сеанса и равномерное увеличение ширины тканей в остальной зоне примерно на 0,3 мм (рисунок 75).

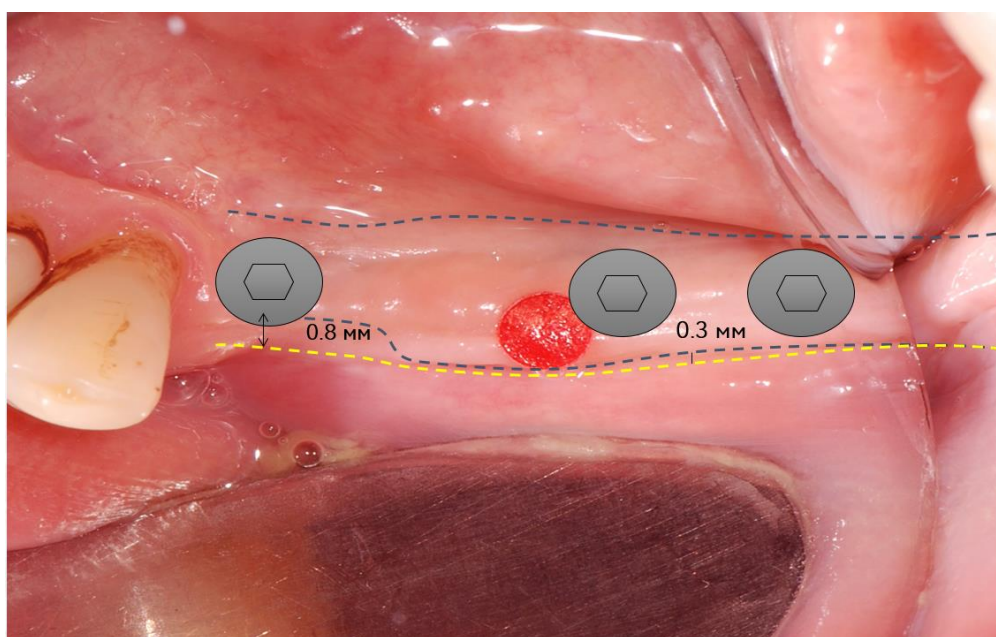


Рисунок 75 – Контрольный осмотр через 2 недели после четвертого сеанса лазерной терапии. Произведено измерение прироста мягких тканей в зоне дентальной имплантации.

Данные результаты позволили отказаться от проведения дополнительной десневой аугментации, так как ширина прикрепленной кератинизированной десны оказалась более 2 мм, что по критерию Lang & Loe является достаточной шириной для обеспечения долговременной стабильности дентального имплантата.

Пациентке произведена установка формирователей десневой манжетки, направлена на протезирование (рисунок 76).



Рисунок 76 – Установлены формирователи десневой манжетки

Клинический пример 2.

Пациентка М., обратилась с жалобами на отсутствие зубов на верхней челюсти слева. Диагноз: отсутствие зубов 2.5, 2.6, 2.7.

Пациентке была произведена установка трех дентальных имплантатов Nobel Biocare Replace Conical Connection в позициях 2.5, 2.6, 2.7. Послеоперационный период протекал без особенностей. У данной пациентки имеется недостаточная ширина прикрепленной кератинизированной десны, в особенности в зоне срединного имплантата в позиции 2.6. Планировалось проведение операции вестибулопластики, но также пациентке было предложено пройти курс лазерной терапии и постараться избежать дополнительной операции на мягких тканях в зоне дентальной имплантации. На десне виден стандартный шаблон, стоматологическим шпателем выполнен тест «десневого» валика (рисунок 77).



Рисунок 77 – Вид мягких тканей до проведения лазерной терапии.

Имеется подвижность верхнего преддверия полости рта
в зоне установленных дентальных имплантатов
и недостаточная ширина прикрепленной кератинизированной десны

В первый сеанс проведено фотографирование, аппликационная анестезия (гель «Дисилан») и лазерная терапия со стандартным режимом обработки, но сниженной энергии по причине болезненности во время процедуры (энергия 120 мДж). На рисунке 78 показано схематическое расположение дентальных имплантатов, белым пунктиром показана мукогингивальная граница до проведения лечения с использованием лазера. Стоматологический шпатель использовался для проведения теста «десневого» валика (рисунок 78).

Следующий сеанс был проведен через 2 недели после первого. У пациентки отсутствовали какие-либо жалобы или нежелательные явления после процедуры. Уже после первого сеанса отмечается прикрепление тканей при выполнении теста «десневого» валика (рисунок 79).

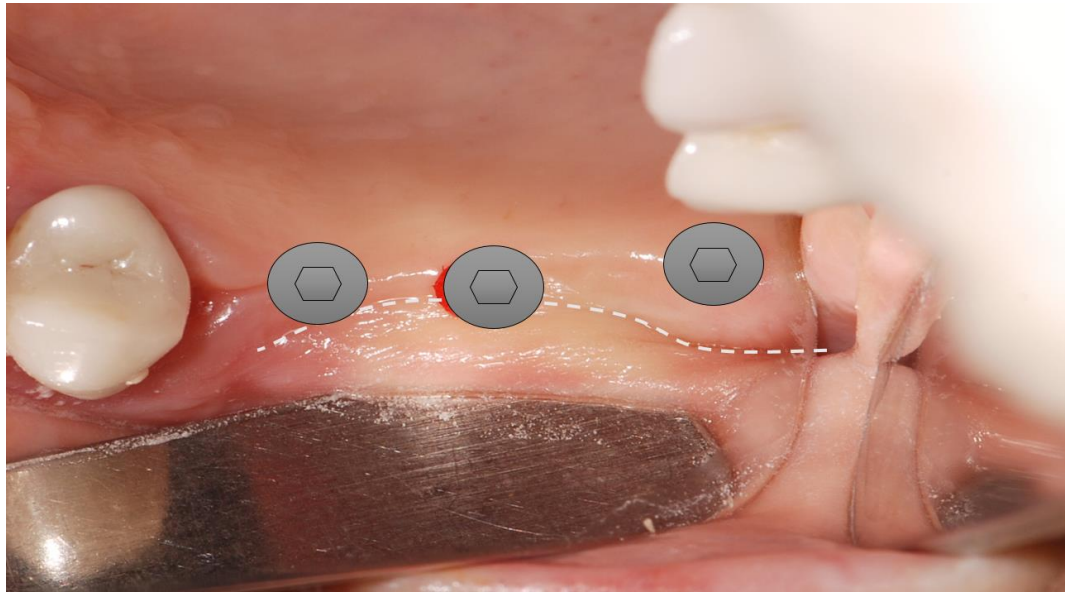


Рисунок 78 – Вид мягких тканей до первого сеанса лазерной обработки, белый пунктир обозначает расположение мукогингивальной границы до лазерной терапии



Рисунок 79 – Вид мягких тканей перед проведением 2 сеанса. Визуально определяется большее прикрепление тканей при выполнении метода «десневого» валика

Проведен фотопротокол перед вторым сеансом с одинакового фокусного расстояния и настроек фотоаппарата для точного измерения изменений со стороны десны. Под аппликационной анестезией была выполнена лазерная терапия со стандартным режимом обработки, также в этот сеанс болезненность пациенткой уже не отмечалась и настройки были изменены (энергия 130 мДж) (рисунок 80).



Рисунок 80 – Вид мягких тканей после проведения 2 сеанса.

На десне видны следы от лазерных аппликаций

Третий сеанс был выполнен через две недели после последнего. Произведены предварительные измерения прироста прикрепленной десны. В области дентального имплантата в позиции 2.5 произошло прикрепление мягких тканей на 3,3 мм, в позиции 2.6 – на 2,5 мм, также произошло уменьшение подвижности верхнего преддверия полости рта, вероятно по причине процессов рубцевания в процессе лазерной абляции (рисунок 81).

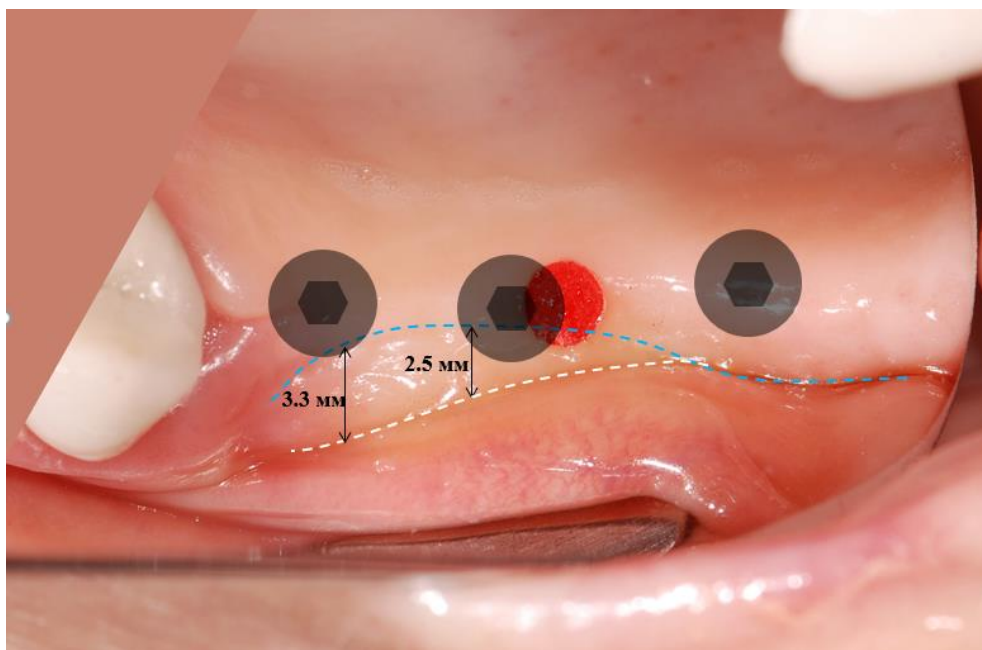


Рисунок 81 – Вид мягких тканей перед третьим сеансом лазерной терапии.

Произведены предварительные измерения,
которые показали прирост мягких тканей по ширине

По причине достижения необходимой ширины тканей (более чем 2 мм) было принято решение ограничиться 3 сеансами лазерной терапии вместо стандартных четырех и провести контрольный осмотр через 2 недели с финальными измерениями для принятия решения о проведении дополнительного оперативного вмешательства на мягких тканях.

Результаты измерений после трех сеансов лазерной терапии показали увеличение ширины прикрепленной десны на 3,7 мм в позиции имплантата 2.5 и на 3,3 мм в позиции имплантата 2.6. В зоне имплантата 2.7 исходная ширина прикрепленной кератинизированной десны достаточна и не нуждалась в проведении лазерной терапии или хирургической аугментации (рисунок 82).

Данный результат позволил нам отказаться от проведения дополнительной хирургической коррекции мягких тканей в зоне установленных дентальных имплантатов и произвести установку формирователей десневой манжетки (рисунок 83).

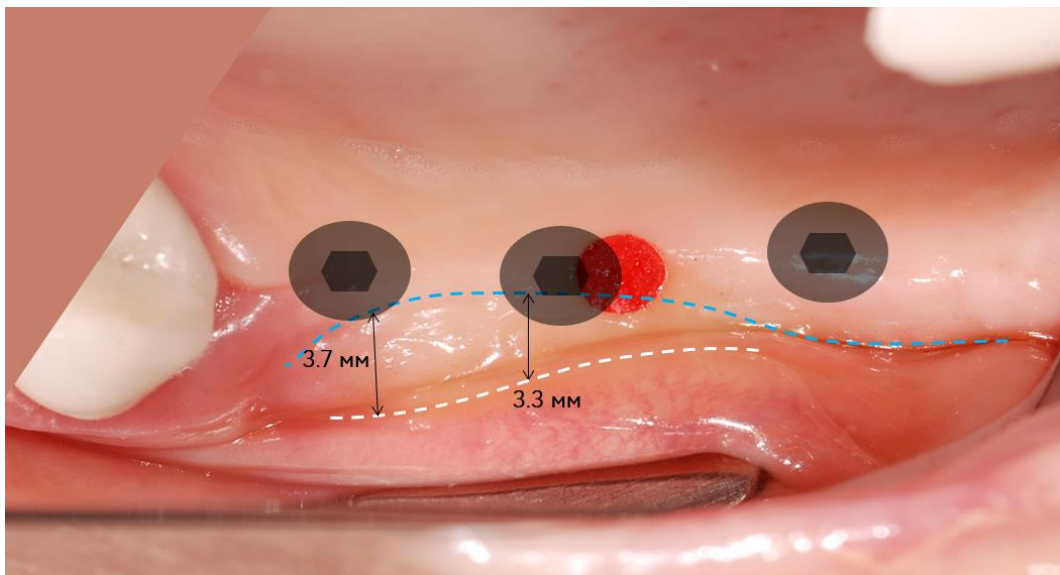


Рисунок 82 – Вид мягких тканей после 3 сеансов лазерной терапии.

Результаты измерений



Рисунок 83 – Установлены формирователи десневой манжетки

Пациентка отправлена к врачу-стоматологу-ортопеду для проведения рационального протезирования.

3.6 Обсуждение

Обеспечение адекватного объема мягких тканей в зоне установленного дентального имплантата является важной задачей, стоящей перед хирургом-стоматологом [9; 165]. Ведь это один из наиболее важных факторов, влияющих на долговременный функциональный и эстетический результат имплантации. Задачами данного исследования на мягких тканях в зоне имплантации было оценить эффективность и безопасность фракционной лазерной обработки с длиной волны 1550 нм, а также возможность увеличения ширины прикреплённой кератинизированной десны при ее дефиците без дополнительной мягкотканной аугментации.

Всего под наблюдением находилось 60 пациентов: 14 мужчин (23,3%) и 46 женщин (76,7%). Возраст пациентов, вошедших в наше исследование, был от 25 до 70 лет, медиана возраста без учёта гендерного признака составляла 54,50 лет (95% ДИ 42,88-59,00). Лазерная терапия производилась на верхней челюсти у 28 пациентов (46,7%), а на нижней челюсти у 32 пациентов (53,3%).

Фракционная лазерная микрокоагуляция показала себя, как безопасный метод воздействия на мягкие ткани полости рта, что соотносится с данными многих авторов [110; 114-117; 134;]. За весь период наблюдения пациентов (2017-2021 год) не было отмечено воспалительных или каких-либо других отрицательных явлений. Наоборот, лазерное воздействие обладает противовоспалительным действием в тех случаях, когда имеются признаки мукозита или периимплантита в зоне имплантатов. Также нами было отмечено положительное действие при наличии рубцов и пигментаций в полости рта, что также соотносится с данными литературных источников [61; 74].

Во время исследования пациентам предлагалось пройти анкетирование степени болезненности процедуры лазерной терапии с использованием визуально-аналоговой шкалы. 49 пациентов из 60 (81,7%) отметили процедуру как абсолютно безболезненную, слабая боль присутствовала у 10 пациентов

из 60 (16,7%). В основном пациенты описывали ее, как ощущение покалывания или небольшого жжения в месте лазерной обработки, которое пропадало при снижении энергии лазерного излучения или сразу после завершения процедуры. Лишь в 1 случае из 60 (1,7%) отмечалась умеренная боль во время всех четырех сеансах лазерной терапии. Поэтому у данного пациента было принято решение вместо аппликационной анестезии применять инфильтрационную. Ни в одном случае не было отмечено сильной боли.

При анализе изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования было выявлено, что в среднем после первого сеанса лазерной терапии происходит увеличение ширины тканей на 0,20 мм (95% ДИ 0,10-0,20), после второго сеанса – в среднем на 0,15 мм (95% ДИ 0,10-0,20), после третьего сеанса – на 0,22 мм (95% ДИ 0,16-0,27), а после четвертого сеанса и на этапе установки формирователей десневой манжетки происходит в среднем одинаковое увеличение ширины тканей на 0,10 мм (95% ДИ 0,00-0,20).

В результате данного анализа выяснено, что наибольший прирост прикрепленной десны в зоне дентальных имплантатов во время лазерной терапии происходит обычно после третьего сеанса лазерной терапии, поэтому среднее количество сеансов при выборе такого варианта лечения не должно быть менее трех.

При анализе изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении с данными исходной оценки до проведения лазерной обработки было выяснено, что после третьего сеанса терапии происходит наибольший прирост тканей в среднем на 0,60 мм (95% ДИ 0,51-0,68).

На последнем этапе установки формирователей десневой манжетки ширина тканей увеличивалась в среднем на 0,90 мм (95% ДИ 0,80-0,90) по сравнению с данными исходной оценки. Поэтому в результате проведения фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм возможно за 4 сеанса в среднем получить прирост тканей по ширине на 0,90 мм, что является хорошей альтернативой проведения дополнительной мягкотканной аугментации у тех

пациентов, у которых имеется небольшой дефицит мягких тканей в зоне дентальной имплантации.

При анализе изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах исследования в сравнении нормальной шириной тканей, в качестве «нормы» было принято значение 2,1 мм и более по стандартному критерию Lang & Loe's [100].

На этапе исходной оценки до лазерной терапии, а также после 1, 2 и 3 сеансов ширина прикрепленной десны была достоверно меньше «нормы», и только после проведения 4 сеанса терапии ширина тканей переставала отличаться от «нормы» ($U=1538,0$; $Z=-1,440$; $p=0,1499$). Данные результаты также подтверждают эффективность применения фракционной лазерной терапии в зоне дентальных имплантатов, однако уменьшение количества сеансов менее 4 может не привести к необходимому увеличению ширины прикрепленных тканей.

В результате сравнительного анализа изменений ширины кератинизированной десны на различных этапах выяснено, что уже после первого сеанса происходит достоверное увеличение ширины тканей ($Z=-6,073$; $p<0,0001$). Также это наблюдается на всех следующих этапах терапии – после второго сеанса лазерной терапии ($Z=-5,077$; $p<0,0001$), после третьего сеанса терапии ($Z=-5,323$; $p<0,0001$), после четвертого сеанса терапии ($Z=-4,343$; $p<0,0001$) и на последнем этапе установки ФДМ ($Z=-4,902$; $p<0,0001$).

В результате сравнительного анализа изменений ширины прикрепленной кератинизированной десны на различных этапах исследования с исходной оценкой выяснено, что уже после первого сеанса происходит достоверное увеличение показателя ширины десны ($Z=-6,073$; $p<0,0001$). Что также наблюдается после второго сеанса лазерной обработки ($Z=-6,334$; $p<0,0001$), после третьего сеанса лазерной терапии ($Z=-6,624$; $p<0,0001$), после четвертого сеанса ($Z=-6,736$; $p<0,0001$) и на последнем этапе установки ФДМ ($Z=-6,073$; $p<0,0001$).

36 пациентам из 60 (60%) удалось достичь необходимой ширины прикрепленной кератинизированной десны (2 мм и более) после проведения лазерной терапии, поэтому данной группе пациентов производилась установка

формирователей десневой манжетки без дополнительной мягкотканной аугментации вокруг имплантатов. 24 пациентам из 60 (40%) было рекомендовано произвести пластику десны вокруг дентальных имплантатов по причине отсутствия необходимой ширины мягких тканей вокруг дентальных имплантатов [12; 16; 182].

Фракционная лазерная терапия является эффективным методом воздействия на мягкие ткани в зоне дентальных имплантатов, который позволяет в некоторых клинических ситуациях избежать дополнительной пластики десны и безоперационным способом получить необходимую ширину тканей при небольшом ее дефиците.

ГЛАВА 4

ЛАЗЕРНОЕ СТРУКТУРИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ДЕНТАЛЬНЫХ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ

4.1 Материал и методы исследования

Для изучения лазерного структурирования поверхности дентальных титановых имплантатов была выполнена серия исследований. Сначала для разработки технологии лазерного формирования морфологии поверхности титановых дентальных имплантатов было выполнено экспериментальное исследование *in vitro* на базе Нижегородской государственной медицинской академии (Приволжский научно-исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород).

Далее для изучения стабильности и остеоинтеграции дентальный имплантатов, структурированных иттербиевым лазером, было выполнено экспериментальное исследование на лабораторных животных (протокол № 208 от 25.06.2018). Экспериментальное исследование *in vivo* выполнено на базе вивария ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России при участии факультета лазерной фотоники и оптоэлектроники университета ИТМО, Санкт-Петербург и стоматологического фрезерного центра «ОРТОС», Санкт-Петербург.

Объектом исследования были выбраны кролики самцы породы «Советская Шиншилла» в возрасте 1 года, весом от 4 кг. Всего принимали участие 15 лабораторных животных.

Лазерное структурирование дентальных имплантатов производилось широко используемым в промышленности отечественным лазерным комплексом МиниМаркерТМ 2 на базе иттербиевого импульсного волоконного лазера (рисунок 84).

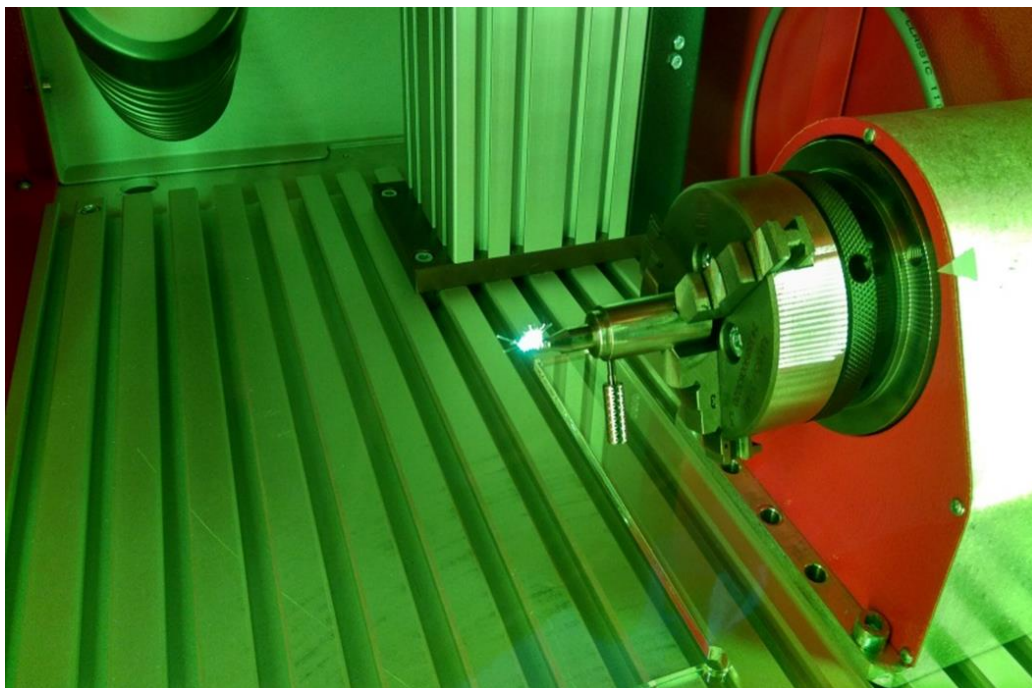


Рисунок 84 – Процесс лазерного структурирования дентального имплантата на аппарате МиниМаркер 2

Металлы достаточно хорошо поглощают излучение данного лазера с длиной волны 1064 нм. Рабочий диапазон плотностей мощности составлял $6,9-63 \times 10^7$ Вт/см² позволяет достичь температуры испарения титана, а сканирующая система (гальванометрические зеркала) совместно с фокусирующей системой (F-тета-линза с обратным фокусным расстоянием 216,1 мм) обеспечивает возможность формирования структур со сложной морфологией (рисунок 85).



Рисунок 85 – Иттербиевый волоконный импульсный лазер МиниМаркер 2
с длиной волны 1064 нм

В стоматологическом фрезерном центре «ОРТОС» для проведения эксперимента были созданы дентальные титановые имплантаты в количестве 60 штук единым размером 3,5 мм диаметром и 6 мм в длину с внутренним коническим соединением и корневидным макродизайном. В качестве материала имплантата был выбран титановый сплав Ti-6Al-4V, который широко применяется в производстве дентальных имплантатов. Имплантаты не подвергались какой-либо механической обработке поверхности в стоматологическом фрезерном центре и отправлялись в Международную научную лабораторию лазерных микро- и нанотехнологий факультета лазерной фотоники и оптоэлектроники университета ИТМО (Санкт-Петербург) для проведения процедуры лазерного структурирования (рисунок 86).



Рисунок 86 – Вид дентального имплантата без механической обработки поверхности, до проведения лазерного структурирования

Для обеспечения биосовместимости имплантата была поставлена задача получить гидрофильную структуру поверхности, обладающую определенным упорядоченным микро- и нанорельефом. Была выдвинута гипотеза, что оптимальной морфологией поверхности для дентальных имплантатов будет структура с элементами надклеточного размера (20-40 мкм). Данная структура обеспечивает определенную подвижность (двигательную активность) клеток и снабжена субструктурой меньшего (нанометрического) размера, функция которой – обеспечение возможности обмена веществ: доступ воздуха и отвод растворимых продуктов жизнедеятельности (для чего могут понадобиться гидрофобные каналы).

В исследованиях Simitzi et al. (2017) с нейронами было выяснено, что разные типы рельефов способны оказывать влияние на поведение клеток [153]. Но лишь протяженный рельеф в виде «канавок» способствует контактному поведению клеток. Подобных данной работе исследований дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в остеогенную группу, например, в остециты, в литературных источниках не встречается.

В настоящем исследовании были сформированы структуры двух типов: лунки (Л-структура) и канавки (К-структура). Период, ширина и глубина структур составила от 20 до 40 мкм.

Упорядоченная «Л-структура» представляет собой совокупность лунок, в которых должны размещаться клетки. Данная структура была получена при использовании лазерного излучения с плотностью мощности $6,9 \times 10^7$ Вт/см² в двухпроходовом режиме обработки. Лунки расположены равномерно по всей поверхности образца, а их диаметр составляет порядка 40 мкм. Период структуры 50 мкм (рисунок 87).

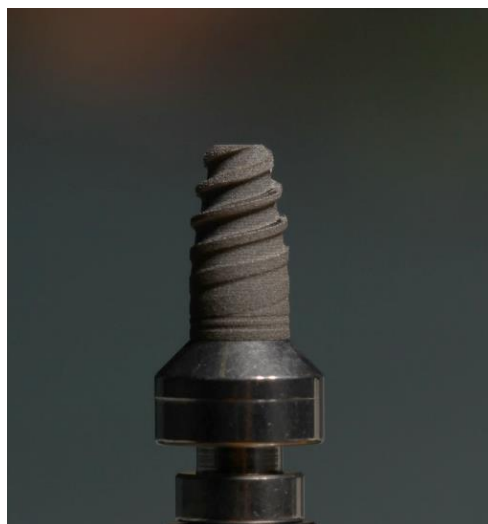


Рисунок 87 – Внешний вид дентального имплантата с Л-структурой поверхности (по типу «лунки»)

Для формирования «канавок» (К-структуры) использовался многопроходовой режим с плотностью мощности 63×10^7 Вт/см². Канавки создавались за три прохода лазерного излучения с формированием параллельных канавок с шагом 30 мкм от начала предыдущей канавки (рисунок 88).

В исследовании *in vitro* произведен анализ методом сканирующей электронной микроскопии (микроскоп Zeiss с дополнительными приставками Oxford Instruments INCAx-act). Сканирующая электронная микроскопия поверхности имплантантов была проведена в Санкт-Петербургском

Государственном Университете в Междисциплинарном ресурсном центре по направлению «Нанотехнологии» (Санкт-Петербург).



Рисунок 88 – Внешний вид дентального имплантата с К-структурой поверхности (по типу «канавки»).

Произведен энергодисперсионный анализ и исследован параметр смачиваемости поверхности дентальных имплантатов в Международной научной лаборатории лазерных микро- и нанотехнологий факультета лазерной фотоники и оптоэлектроники университета ИТМО (Санкт-Петербург).

После завершения исследования *in vitro* стало возможным приступить к клиническому этапу с участием лабораторных животных.

4.2 Методика оперативного вмешательства

Традиционно объектом исследования для оценки остеоинтеграции имплантатов являются более крупные лабораторные животные (собаки, мини пиги), которым имеется возможность установить изделия стандартного размера в челюсти.

Челюсти кроликов слишком малы для установки дентальных имплантатов стандартного размера. Поэтому после изучения научной литературы было

принято решение устанавливать дентальные имплантаты в большеберцовые кости кроликов, которые удобны для проведения оперативного вмешательства, не причиняют сильного дискомфорта животному в послеоперационном периоде и анатомически схожи с челюстью по строению костной ткани.

До проведения оперативного вмешательства была изучена анатомия опорно-двигательного аппарата кроликов, в том числе и большеберцовая кость. Также для более точной отработки и планирования всех шагов предстоящей процедуры была взята модель (тело фермерского кролика) и произведено послойное препарирование тканей в области большеберцовой кости. Вся операционная бригада полностью прошла этапы предстоящей процедуры на модели для сокращения операционного времени.

В каждую большеберцовую кость кролика было установлено по 2 дентальных имплантата – один с Л-структурой, другой с К-структурой. Соответственно в каждое лабораторное животное было установлено по 4 дентальных имплантата. Всего было установлено 60 имплантатов.

Оперативное вмешательство проводилось в условиях операционной лаборатории инвазивных технологий научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России. До проведения операции животных подготавливали к премедикации (атропин подкожно за 10-15 минут в дозировке 0,1 мг/кг), далее проводили премедиацию: препаратом рометар («Ксила») подкожно или внутримышечно в дозе 4 мг/кг, кетамин внутримышечно или подкожно в дозе 10-15 мг/кг, дроперидол 0,25% р-р подкожно или внутримышечно в дозировке 2,5 мг/кг. е. Через 10-15 минут в ушную вену устанавливался внутривенный катетер размером 23 G для проведения внутривенного обезболивания. Далее производилось разведение в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия кетамина 50 мг, дроперидола 2,5 мг и ксилазина гидрохлорида 20 мг. Препараты вводили медленно до исчезновения ресничного, роговичного и pedalного рефлексов. Далее производилась интубация лабораторного животного (рисунок 89).



Рисунок 89 – Лабораторное животное интубировано
во время проведения хирургической процедуры

Первым этапом выполняется бритье операционной зоны. Далее производилась медикаментозная обработка операционного поля (р-р октенисепт), была сделана инфильтрационная анестезия раствором лидокаина 2% 2 мл.

Во время основной хирургической процедуры всем животным производился продольный разрез на обеих большеберцовых костях длиной 5-6 см (рисунок 90).



Рисунок 90 – Продольный разрез на большеберцовой кости кролика

Далее послойно отслаивались кожа с подкожно-жировой клетчаткой, далее фасции с мышцами, отслаивалась надкостница (рисунок 91).



Рисунок 91 – Визуализирована большеберцовая кость кролика

Был использован физиодиспенсер для препарирования ложа под имплантат (NSK Surgic AP с наконечником W&H WS-75 L G) с применением обязательного водяного охлаждения физиологическим раствором NaCl 0,9% (рисунок 92).



Рисунок 92 – Формирование ложа под имплантаты
путем последовательной смены фрез

Сформированы ложа под имплантаты размером 3,5×6 мм путём последовательной смены фрез (рисунок 93).

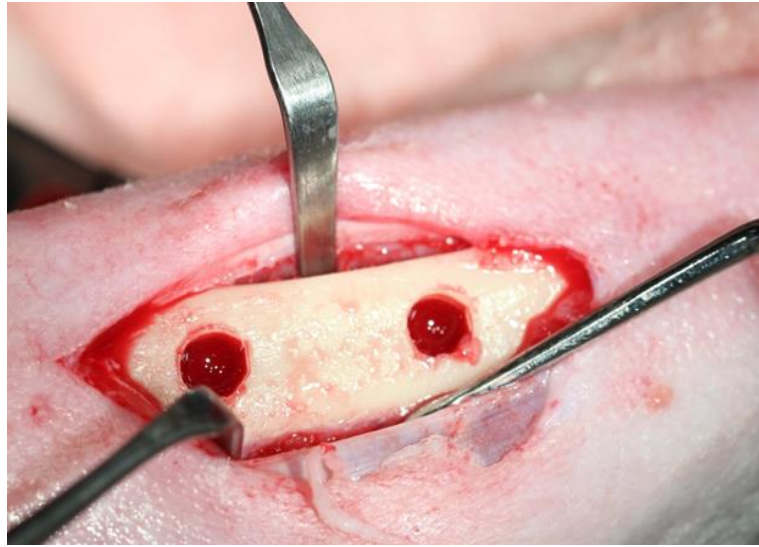


Рисунок 93 – Сформированы ложа под имплантаты

Производилась установка имплантатов, первичная стабилизация оценивалась с использованием динамометрического ключа и составляла 25-35 н/см², данные измерения вносились в таблицу (рисунок 94).

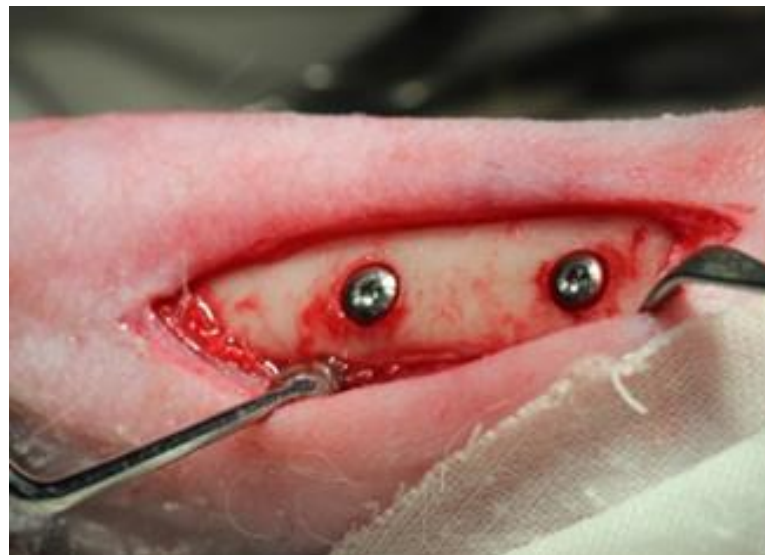


Рисунок 94 – Установлено 2 имплантата в большеберцовую кость

Далее рана промывалась раствором гентамицина (1 мл). Далее производилось послойное наложение швов материалом Vycril 5,0 и обработка кожных швов 5% спиртовым раствором йода (рисунок 95).



Рисунок 95 – Послойное ушивание раны

После операции животные проходили общую проверку состояния, были наложены согревающие грелки. Кролики наблюдались до появления всех рефлексов. После того, как животные занимали свое естественное анатомическое положение в пространстве (лежит на лапах, держит голову), они были перенесены в клетки постоянного содержания в виварии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России.

В раннем послеоперационном периоде всем экспериментальным животным проводилась системная антибактериальная терапия гентамицина сульфатом 4% в течение 7 дней по 2 мл 1 раз в сутки. Ежедневно животные получали по 150 г комбикорма для взрослых лабораторных кроликов и 300 г овощей. Снижения активности животных и массы их тела при ежедневном взвешивании не было.

Послеоперационный период протекал без особенностей, не было зарегистрировано смертельных случаев среди животных.

Кролики были разделены на 2 группы (7 животных в первой группе и 8 животных во второй группе) и выведены из эксперимента через 1,5 месяца и 3 месяца после операции.

Эвтаназия выполнялась путем внутривенного введения раствора пентобарбитала натрия в дозировке 200 мг на 1 кг массы тела животного.

Сразу после выведения животного из эксперимента был сформирован доступ к операционной зоне, выполнен разрез и отслоены ткани. Далее производилась оценка стабильности дентальных имплантатов методом частотно-резонансного анализа прибором Osstell ISQ. В процессе измерения устанавливался специальный переходник, изготовленный для данного вида имплантатов. Он возбуждался магнитным импульсом от измерительного прибора. Резонансная частота, которая является мерой стабильности имплантата, вычисляется на основе ответного сигнала. На дисплей аппарата выводится удобное для врача значение – коэффициент стабильности имплантата или Implant Stability Quotient (ISQ). Цифровой диапазон представлен от 1 до 100 у.е., чем выше значение, тем лучше стабильность имплантата. По данным производителя считается, что числовое значение от 70 и выше представляют собой высокую стабильность имплантата. Данные измерений также фиксировались в сводную таблицу Microsoft Excel 2016.

4.3 Подготовка препаратов не декальцинированной костной ткани

После измерения стабильности имплантата производился забор блоков костной ткани, содержащий в себе имплантат и окружающую костную ткань, для проведения гистологического и гистоморфометрического анализа. Забор блоков производился с использованием циркулярной фрезы с водяным охлаждением (рисунок 96).



Рисунок 96 – Забор блоков костной ткани для гистологического и гистоморфометрического исследования.

Далее производилась фиксация препарата в 10% растворе нейтрального формалина на 24-72 часа. После производилась дегидратация в серии спиртов с последовательным повышением концентрации от 70 до 100% каждые 15 минут.

Для проведения качественного гистологического и гистоморфометрического исследования необходимо было получить гистологический срез, который содержит в своём составе костную ткань и титановый имплантат. Это возможно сделать только с использованием специализированного метода работы с недекальцинированной костной тканью.

На базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН была произведена заливка и пропитка препарата специальной синтетической смолой (Technovit 7100 ®, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany), которая используется по данным исследований [5; 13]. Таким образом были получены полимеризационные блоки, содержащие имплантат с окружающей костной тканью.

Из полученных блоков необходимо было получить высокоточные срезы толщиной не менее 50 микрон. Данная задача была выполнена с помощью

специального оборудования на базе института наук о Земле, Санкт-Петербургский Государственный университет. Были получены шлифы толщиной от 10 до 50 мкм (рисунок 97).

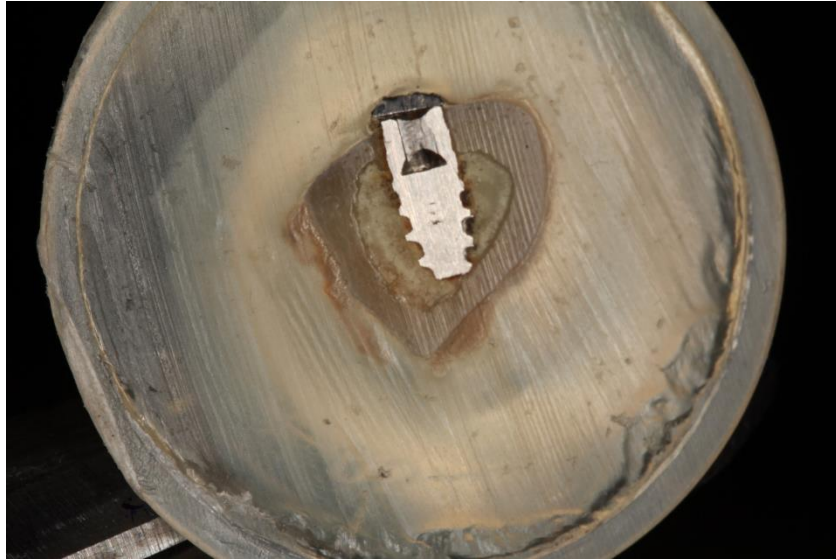


Рисунок 97 – Получен срез толщиной менее 50 мкм

Препарат окрашивался толуидиновым синим, так как данный краситель подходит для работы с декальцинированной костной тканью (рисунок 98) [128].

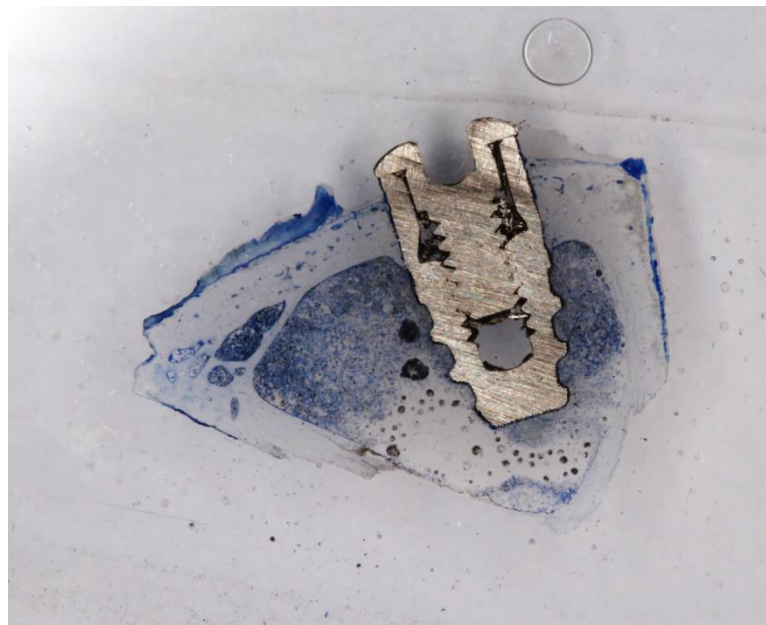


Рисунок 98 – Препарат после окрашивания толуидиновым синим

Таким образом, получались препараты, готовые к гистологическому и гистоморфометрическому исследованию.

Гистологическое исследование недекальцинированных костной ткани производилось в ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе (Carl Zeiss LSM 780).

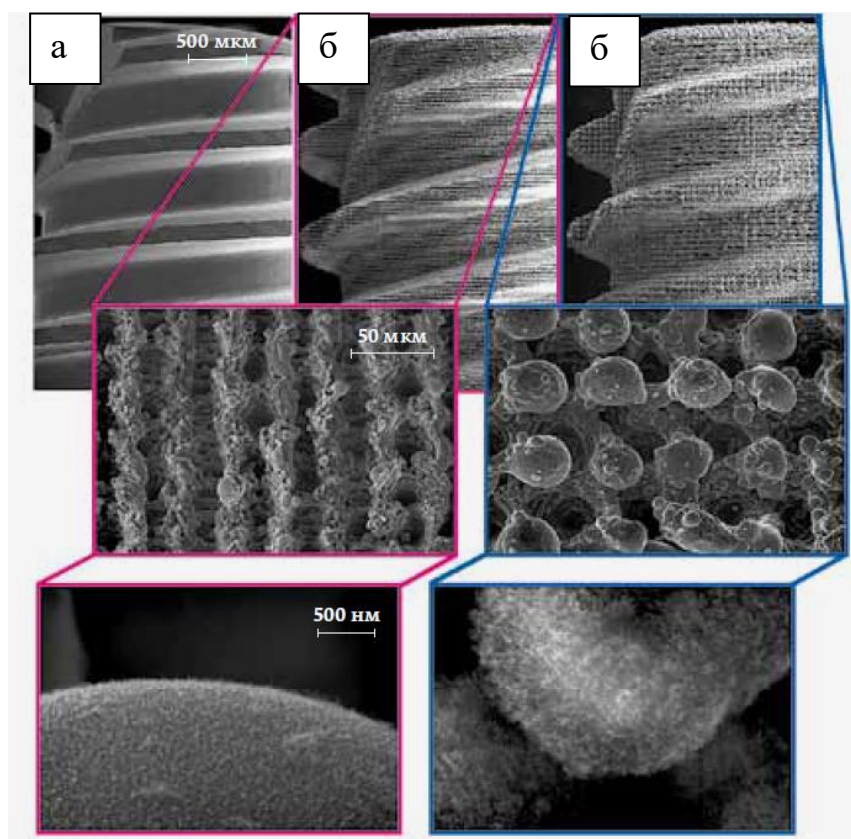
Далее была проведена гистоморфометрия и высчитывались такие показатели остеоинтеграции имплантата, как BIC-индекс (Bone implant contact), FIC-индекс (Fibrous implant contact), количество клеток костной ткани – остеобластов (area of osteoblasts surface).

4.4 Результаты *in vitro* исследования

В исследовании *in vitro* произведен анализ методом сканирующей электронной микроскопии (микроскоп Zeiss с дополнительными приставками Oxford Instruments INCAx-act). Сканирующая электронная микроскопия поверхности имплантатов была проведена в Санкт-Петербургском Государственном Университете в Междисциплинарном ресурсном центре по направлению «Нанотехнологии» (Санкт-Петербург).

На рисунке 99 приведены снимки сканирующей электронной микроскопии исходной (необработанной) поверхности (П-структура, полированная структура) титановых имплантатов и имплантатов после лазерной обработки. На снимках можно увидеть наличие на поверхности титана рельефа разного масштаба: микро- и нанорельефа.

Был произведен энергодисперсионный анализ и исследован параметр смачиваемости поверхности дентальных имплантатов в Международной научной лаборатории лазерных микро- и нанотехнологий факультета лазерной фотоники и оптоэлектроники университета ИТМО (Санкт-Петербург) под руководством профессора, д.т.н. В.П. Вейко.



- а – имплантат до лазерного структурирования;
 б – имплантат после лазерного структурирования (К-структура);
 в – имплантат после лазерного структурирования (Л-структура)

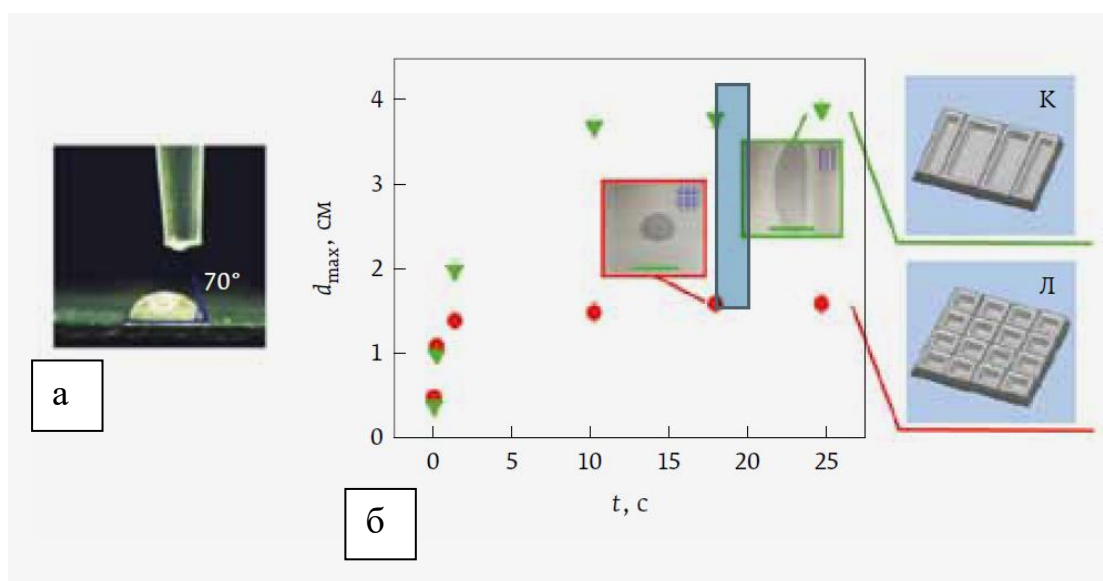
Рисунок 99 – Макрофотография. Сканирующая электронная микроскопия имплантатов до (а) и после лазерной обработки (б, в)

Энергодисперсионный анализ показал наличие кислорода на структурированных поверхностях (таблица 6). Это свидетельствует о наличии оксида титана на поверхности имплантата, и тем самым показывает, что он также обладает хорошей биосовместимостью.

Таблица 6 – Химический состав поверхности дентальных имплантатов до и после лазерной обработки

Тип структуры	Химический состав, %			
	Ti	Al	V	O
К-структура	66,04	3,07	3,47	27,42
Л-структура	61,10	2,66	3,51	32,73

Краевой угол смачивания поверхности всех структур был измерен с помощью подсветки капли LED-источником освещения суммарной мощностью 1 Вт и ПЗС-камеры высокого разрешения TourCam. В качестве тестовой жидкости применялась дистиллированная вода, объем капли – 0,1 мкл. Для определения величины угла смачивания использовалось программное обеспечение Digimizer. Проводились измерения по трем образцам каждой структуры (рисунок 100).



а – до лазерной обработки (угол смачивания 70°);

б – кинетика смачивания d_{max} (см) во времени t (с) поверхности К- и Л-структур.

Рисунок 100 – Результаты исследования смачиваемости поверхности титановых дентальных имплантатов

Согласно результатам измерений, угол смачивания поверхности титана до лазерной обработки составил 70° (рисунок 100, а). Измерить же угол смачивания поверхностей после лазерной обработки невозможно, по причине того, что поверхность из гидрофильной превратилась в супергидрофильную (т. е. капля, попав на нее, мгновенно растекается и пропитывает структуру). Кинетика изменения максимального диаметра d_{max} растекшейся капли во времени t отображена на графике (рисунок 100, б).

Стоит отметить, что каждой структуре соответствует разный характер растекания капли: Л-структуре соответствует симметричная овальная область растекания, а К-структуре – несимметричная вытянутая вдоль желобков канавок и большая по площади. Как известно, смачиваемость играет важную роль в адсорбции белка и клеток на поверхности, а супергидрофильные поверхности способствуют этому.

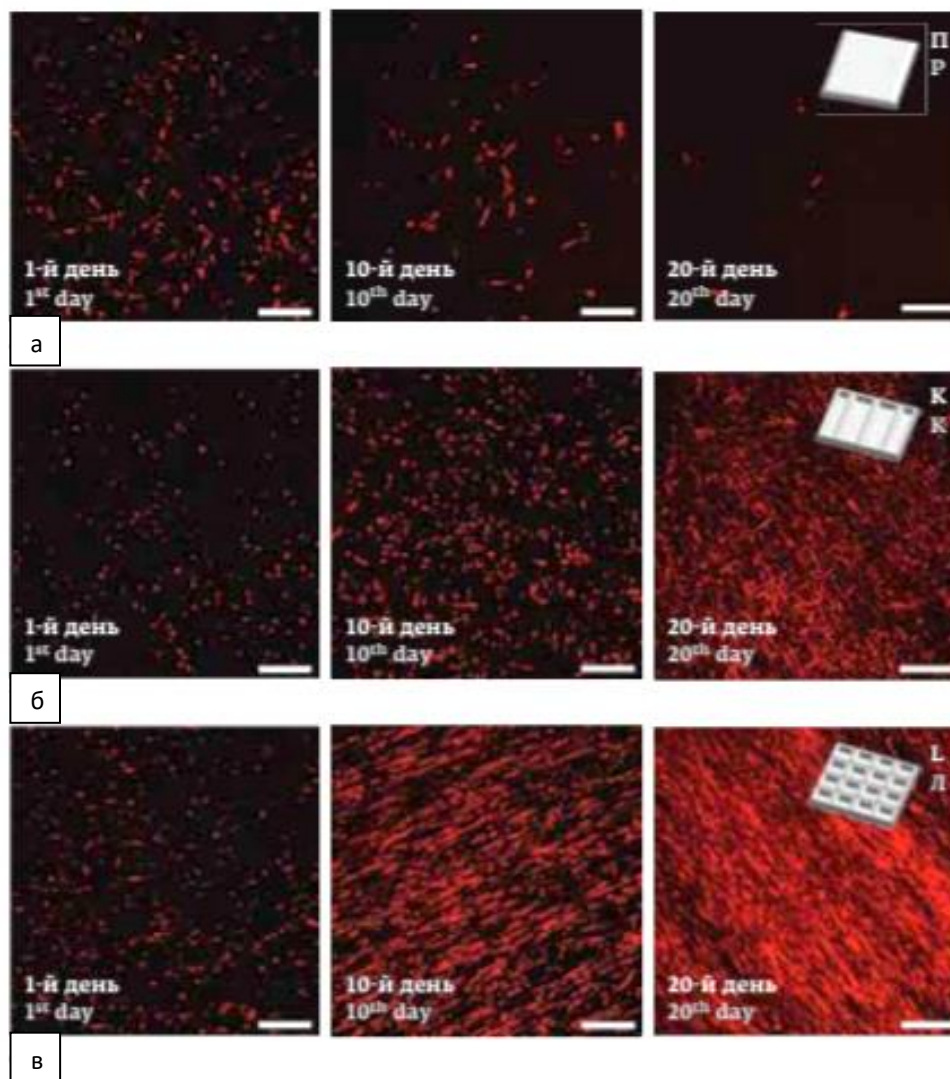
Таким образом, с помощью лазерного структурирования были сформированы на поверхности титановых дентальных имплантатов супергидрофильные рельефы, состоящие одновременно из микро- и наноструктур.

В качестве модельной среды для проведения *in vitro* исследований были выбраны мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, которые, в свою очередь, были выделены из костного мозга человека. Еще на стадии культивирования клетки были окрашены лентивирусными частицами, несущими ген флуоресцентного белка TurboFP635 (производство Евроген, Россия). Было произведено перемещение клеток на поверхность образцов, расположенных в культуральных планшетах. Анализ результатов культивирования проводился спустя 1, 5, 10, 15 и 20 суток после перемещения клеток на образец.

В первый контрольный период, спустя сутки после перемещения, клетки были обнаружены на всех типах образцов (рисунок 101).

На образце без структурирования («П») клетки располагались ровным слоем и имели фибробластоподобную вытянутую форму, что показывало их нормальную адгезию. Однако в последующие дни исходное количество жизнеспособных клеток на поверхности данного образца уменьшалось и на 20-й день достигло нулевого значения.

Структура «Л» спустя сутки была покрыта одиночными клетками округлой формы, которые характерны для неполной адгезии, однако на 20-й день после перемещения клеток на поверхность количество жизнеспособных элементов достигло значения 196 000 клеток на образец.



а – структура без структурирования «П»; б – структура «К»; в – структура «Л».

Рисунок 101 – Качественный анализ пролиферации клеток на поверхности образцов до и после лазерной обработки.

Масштабная шкала соответствует 300 мкм

Клетки на структуре «К» спустя сутки были расположены ровным слоем и имели фибробластоподобную вытянутую форму, что показывало их нормальную адгезию. На данной структуре наблюдалось наибольшее количество клеток последующие сутки, и к концу исследования достигло 266 500 клеток на образец – это максимальное число среди всех образцов. Исходя из результатов *in vitro* исследования можно сделать вывод о том, что оптимальной структурой для мультипотентных стволовых клеток является структура «К» (рисунок 102).

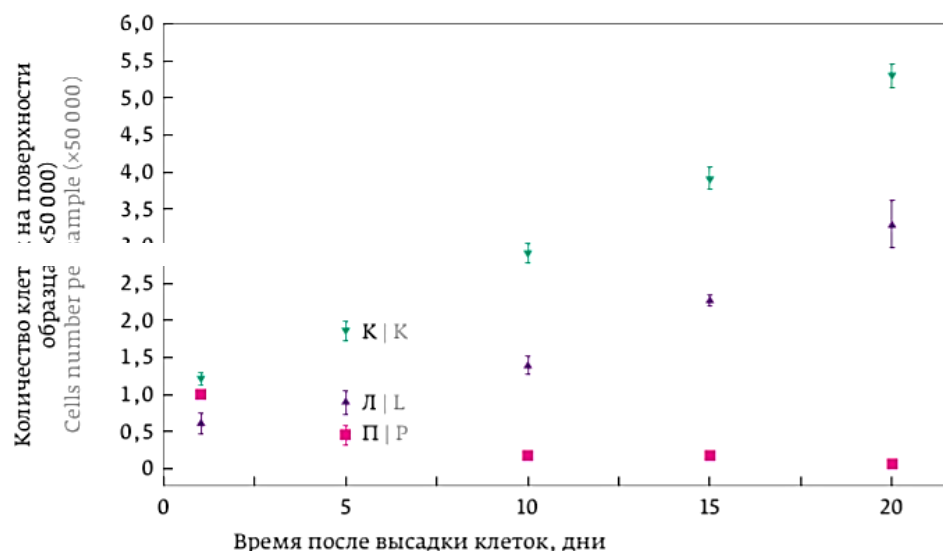
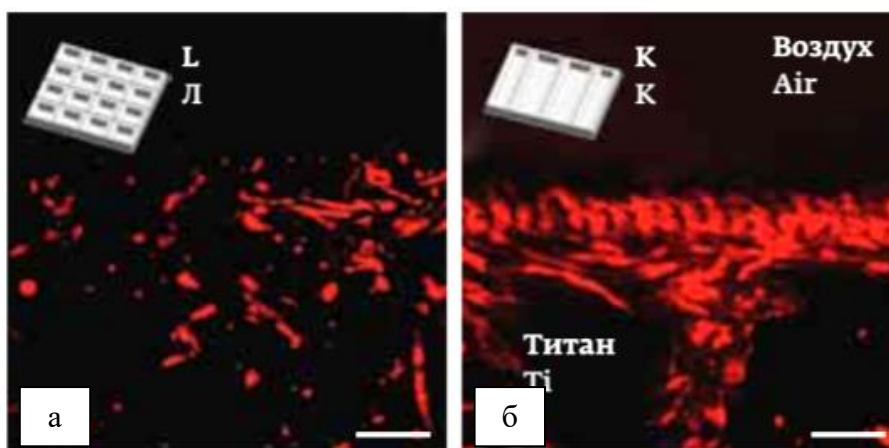


Рисунок 102 – Количественный анализ пролиферации клеток на поверхности образцов до и после лазерной обработки

После исследования пролиферации клеток были получены поперечные срезы образцов для определения возможности прорастания в глубь открытых пор структур или же только выстилка по поверхности. Полученные результаты показывают, что клетки располагаются не только по поверхности структур, но также прорастают внутрь открытых пор (рисунок 103).



а – Л-структура; б – К-структура.

Рисунок 103 – Качественный анализ интеграции клеток вглубь структур «Л» и «К». Масштабная шкала соответствует 300 мкм

4.5 Результаты in vivo исследования

Результаты исследования in vivo оценивались по параметру стабилизации имплантата методом частотно-резонансного анализа прибором Osstell ISQ, гистологическому и гистоморфометрическому анализу.

Стабильность дентальных имплантатов оценивалась методом частотно-резонансного анализа прибором Osstell ISQ.

На сроке в 1,5 месяца после операции среднее значение показателя стабильности дентальных имплантатов с К-структурой поверхности составляло 63,8, а на сроке в 3 месяца после операции – 76,8, что по данным производителя прибора считается хорошим показателем стабилизации имплантата.

На сроке в 1,5 месяца после операции среднее значение показателя стабильности дентальных имплантатов с Л-структурой поверхности составляло 60,5, а на сроке в 3 месяца после операции – 74,2, что также является числовым значением хорошей стабилизации (рисунок 104).

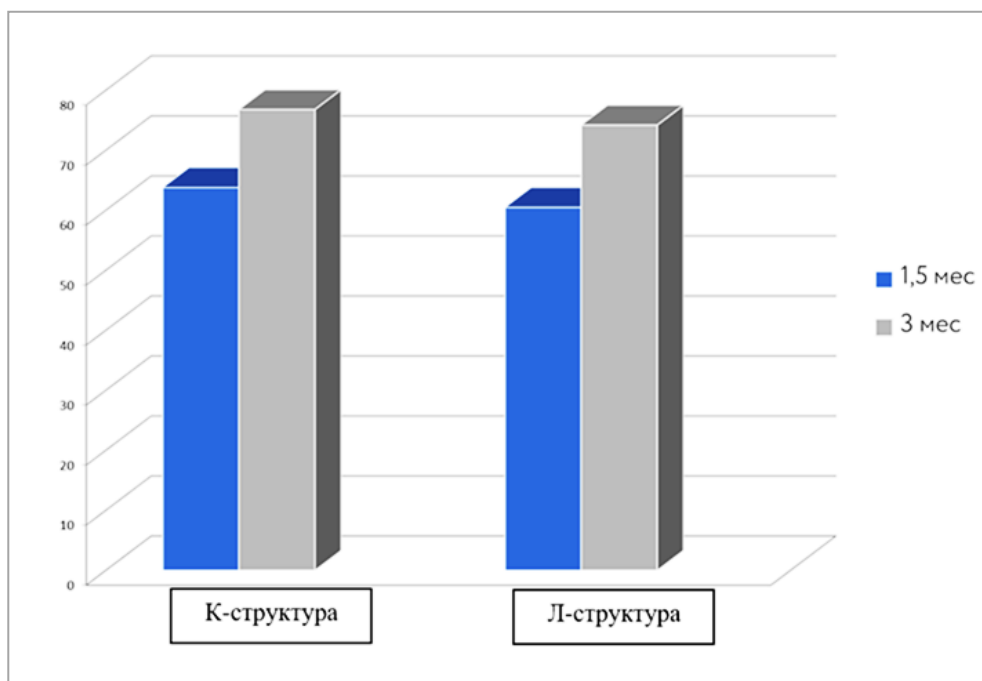


Рисунок 104 – Результаты измерения стабильности имплантатов с разными поверхностями на сроке в 1,5 и 3 месяца

Гистологическое исследование недекальцинированных костной ткани выполнялось на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе (Carl Zeiss LSM 780) в ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России.

Гистологическое исследование препарата с Л-структурой поверхности представлено костным фрагментом со зрелыми остеоцитами, которые прилежат плотно у поверхности имплантата. Единичные остеоциты находятся в «лакунах» титана, сформированными лазерным микроструктурированием поверхности. По краям препарата имеются гаверсовы каналы нормальной структуры. Нет признаков воспаления (рисунок 105).

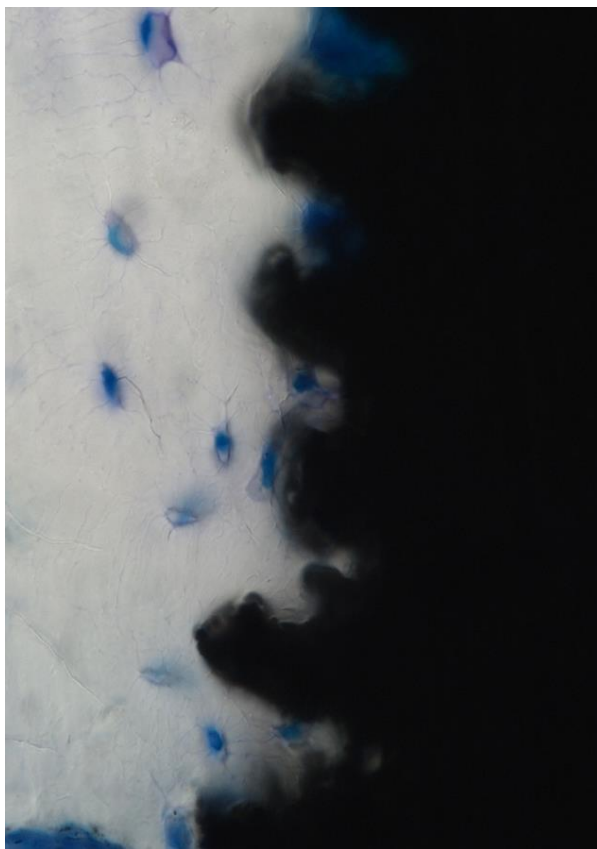
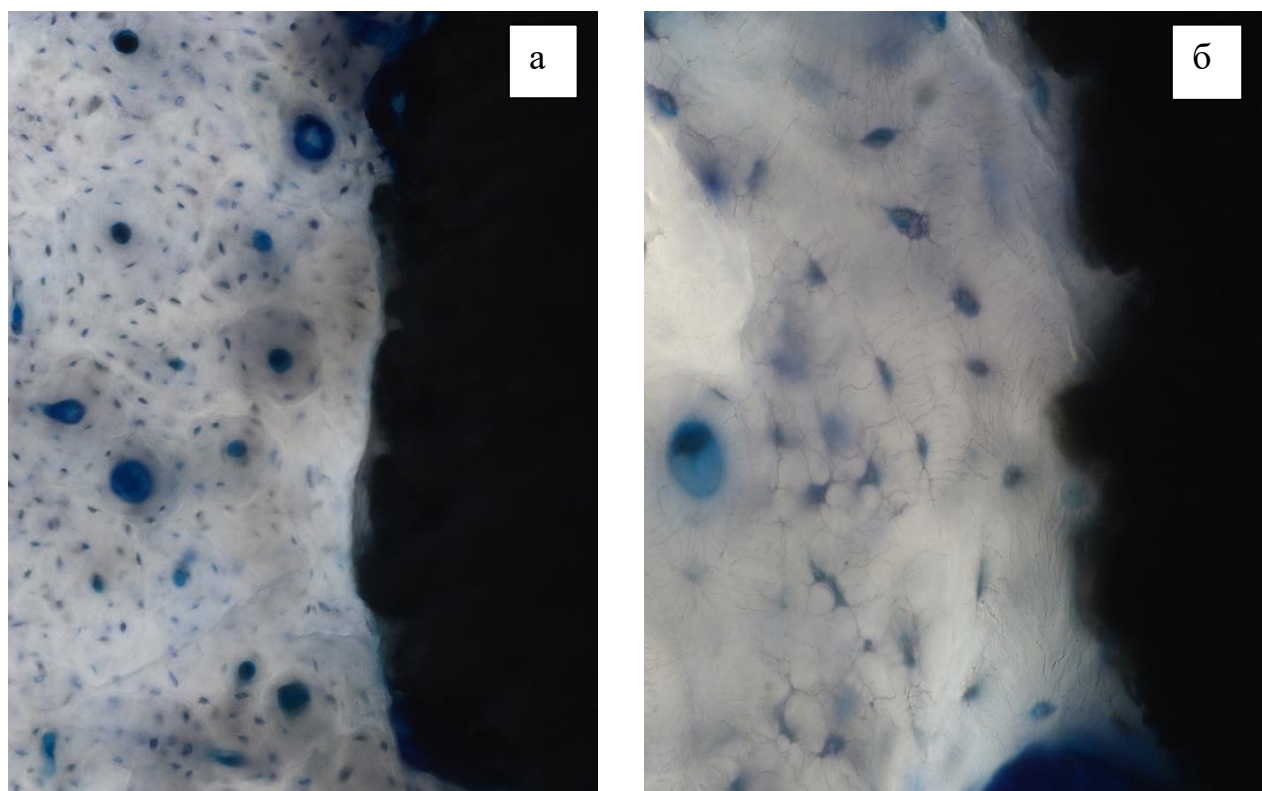


Рисунок 105 – Микрофотография. Увеличение $\times 40$.

Гистологическое исследование имплантата с К-структурой
на сроке 3 месяца после операции.

Гистологическое исследование препарата с К-структурой поверхности представлено фрагментом зрелой пластинчатой кости с неравномерным

расположением гаверсовых каналов, разных по диаметру, что говорит о прошедших перестроечных процессах в костной ткани. Фрагмент пластинчатой кости с равномерно расположенными остеоцитами. Хорошо контурируются отростки костных клеток, соединяющиеся друг с другом. В центре имеется один округлый заполненный кровью гаверсов канал (рисунок 106).



а – увеличение $\times 20$; б – увеличение $\times 40$.

Рисунок 106 – Микрофотография. Гистологическое исследование имплантата с Л-структурой на сроке 3 месяца после операции

Для проведения расчета ВИС-индекса и FIC-индекса в программном обеспечении Digimizer была построена линия контакта имплантат – кость и вычислена длина участка (рисунок 107).

После этого в программном обеспечении ImageJ была рассчитана площадь и количество остеобластов (рисунок 108).

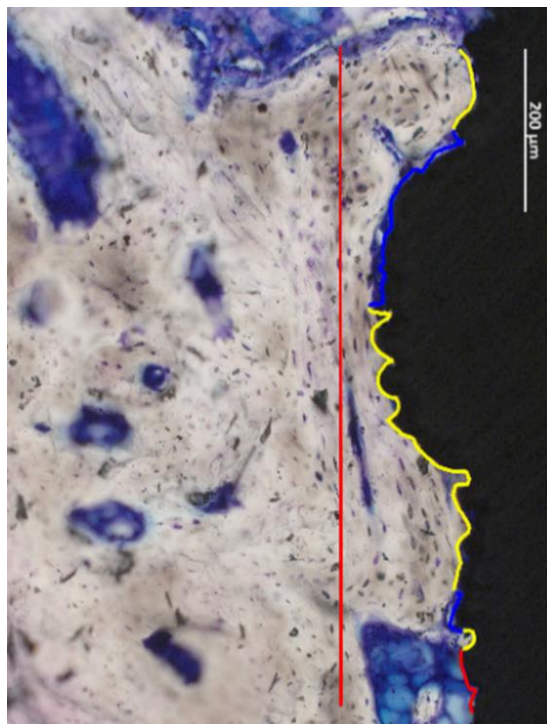


Рисунок 107 – В программном обеспечении Digimizer была построена линия контакта имплантат – кость и вычислена длина участка для проведения расчета BIC-индекса и FIC-индекса

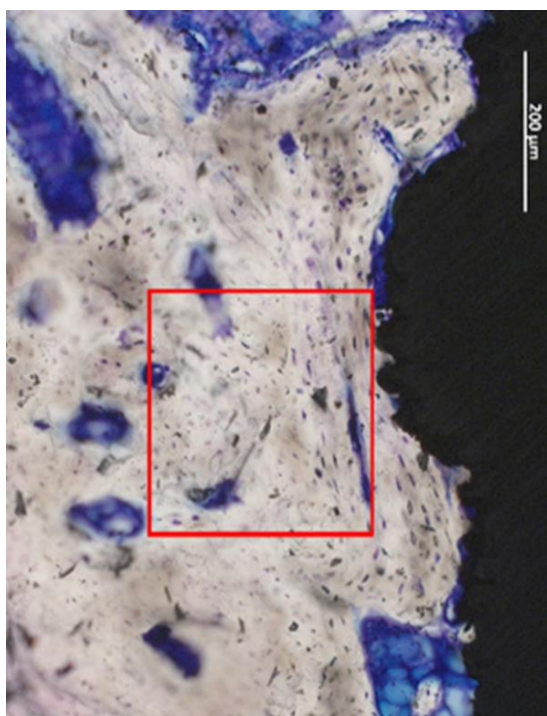


Рисунок 108 – В программном обеспечении ImageJ была рассчитана площадь и количество остеобластов

На сроке в 1,5 месяца после операции ВИС-индекс дентальных имплантатов с К-структурой поверхности составлял 72%, а ВИС-индекс дентальных имплантатов с Л-структурой поверхности – 66%. На сроке в 1,5 месяца после операции FIC-индекс дентальных имплантатов с К-структурой поверхности составил 28%, а FIC-индекс дентальных имплантатов с Л-структурой – 34% (рисунок 109).

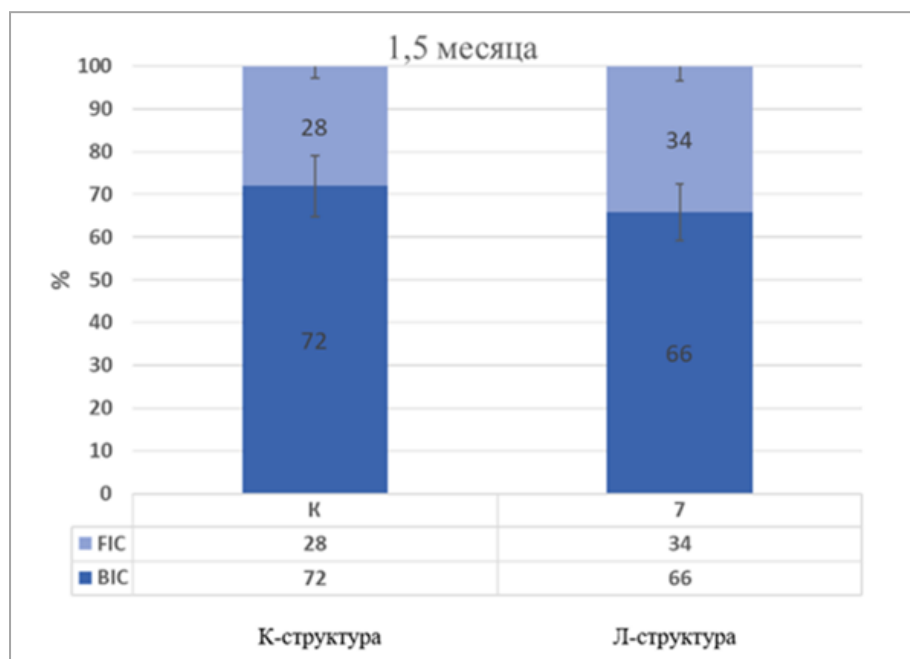


Рисунок 109 – ВИС-индекс и FIC-индекс дентальных имплантатов с различным типом поверхностей на сроке в 1,5 месяца после операции

На сроке в 3 месяца после операции ВИС-индекс дентальных имплантатов с К-структурой поверхности составлял 80%, а ВИС-индекс дентальных имплантатов с Л-структурой поверхности – 74%. На сроке в 3 месяца после операции FIC-индекс дентальных имплантатов с К-структурой поверхности составил 20%, а FIC-индекс дентальных имплантатов с Л-структурой – 26% (рисунок 110).

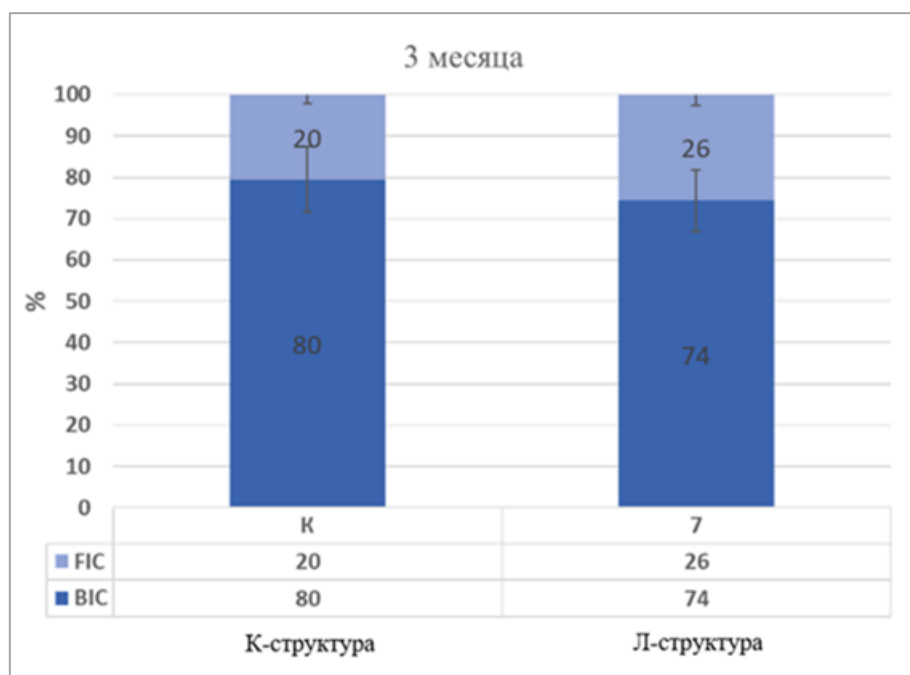


Рисунок 110 – BIC-индекс и FIC-индекс дентальных имплантатов с различным типом поверхностей на сроке в 3 месяца после операции

Для проведения расчета количества клеток костной ткани – остеобластов (area of osteoblasts surface) и соответствующих индексов I.Ob.S и N.Ob.S в программном обеспечении Digimazer была взята область 300×300 мкм, выделены клетки костной ткани (остеобласты), подсчитано их количество и площадь в процентом соотношении от общей площади взятой области. На основе этих параметров введен новый для наблюдения динамики клеток – area the cell – соотношение I.Ob.S к N.Ob.S, т.е. площадь одной клетки выраженной в %.

На сроке в 1,5 и 3 месяца процентное соотношение клеток костной ткани не изменилось и составило 0,046 % в зоне дентальных имплантатов с К-структурой поверхности (рисунок 111).

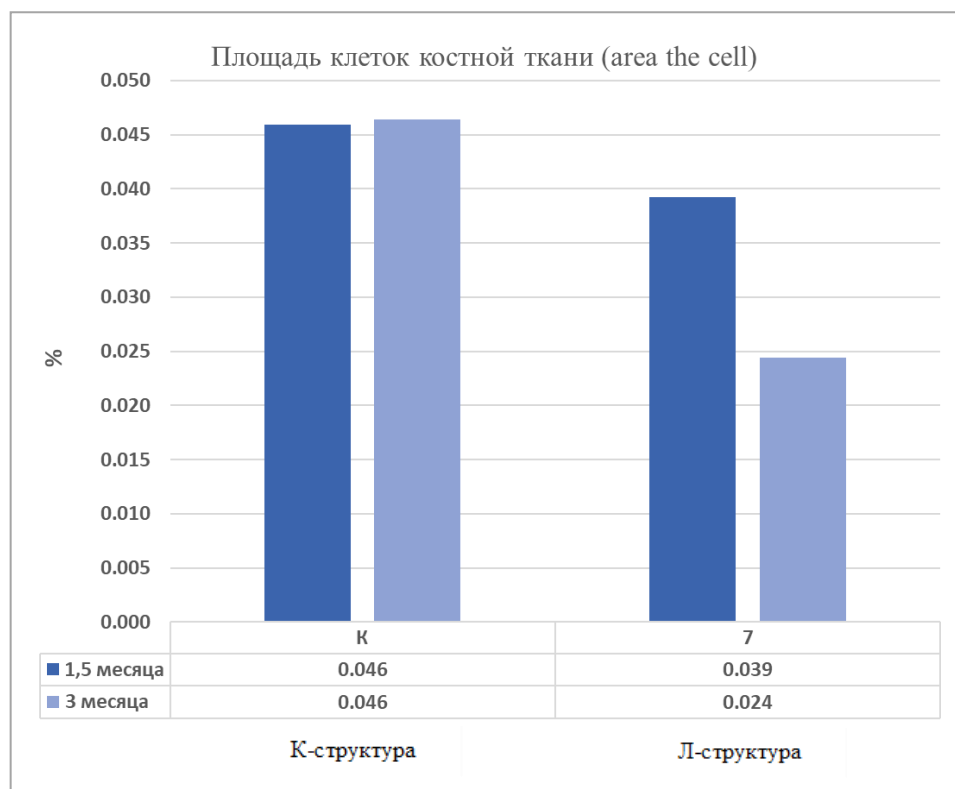


Рисунок 111 – Процентное соотношение клеток костной ткани в зоне дентальных имплантатов с различным типом поверхностей на сроке в 1,5 и 3 месяца после операции

При сравнении на сроках в 1,5 и 3 месяца процентного соотношения клеток костной ткани в зоне дентальных имплантатов с Л-структурой поверхности было получено достоверное снижение с 0,039% до 0,024%, что свидетельствует о процессе созревания костной ткани, снижения числа остеобластов и трансформация их в остециты.

4.6 Обсуждение

Технология лазерного структурирования дентальных имплантатов позволяет создавать упорядоченный рельеф поверхности, например, в виде канавок и лунок, без использования химических реагентов и всего за один технологический этап.

Perrotti и Palmieri (2013) полагают, что наилучшие результаты с точки зрения взаимодействия костной ткани и имплантата достигаются при использовании поверхности с однородной структурой по сравнению с неровной поверхностью, содержащую пики и впадины [62; 77].

Поэтому такой метод обработки является очень перспективным для создания микрорельефа дентальных имплантатов и показывает отличные результаты остеоинтеграции и функциональной стабильности [106].

В настоящее время современные исследования эффективности и безопасности установки дентальных имплантатов невозможно проводить без качественного анализа взаимоотношений между дентальным имплантатом и воспринимающим ложем – окружающей костной тканью. Благодаря исследованию и изучению границы имплантат-костная ткань имеется возможность разработки оптимальных материалов, дизайна поверхности и тем самым повысить успех реабилитации пациентов с применением дентальных имплантатов [25; 127].

В результате проведенного исследования с помощью лазерного структурирования удалось создать упорядоченные структуры поверхности дентальных имплантатов двух типов – по типу «канавки» и «лунки».

Проведенный энергодисперсионный анализ показал наличие кислорода на структурированных поверхностях, что свидетельствует о наличии оксида титана на поверхности имплантата, и тем самым показывает, что он также обладает хорошей биосовместимостью.

Качественный анализ пролиферации клеток на поверхности созданных структур показал, что оптимальной структурой для мультипотентных стволовых клеток является структура «К». Спустя сутки клетки были расположены ровным слоем и имели фибробластоподобную вытянутую форму, что характеризует их нормальную адгезию, а в последующие сутки на данной структуре наблюдалось наибольшее количество клеток, и к концу исследования достигло 266 500 клеток на образец.

Для оценки остеоинтеграции имплантатов производился анализ стабилизации имплантатов методом частотно-резонансного анализа [137; 142].

На сроке в 1,5 месяца после операции средние значения показателей стабильности дентальных имплантатов обоих типов морфологии поверхности были ниже нормального значения (К-структура – 63,8 у.е.; Л-структура – 60,5 у.е.), что вероятнее всего связано с измерением на небольшом сроке после оперативного вмешательства.

На сроке в 3 месяца после операции средние значения показателей стабильности дентальных имплантатов обоих типов морфологии поверхности были выше нормального значения (К-структура – 76,8 у.е.; Л-структура – 74,2 у.е.), что говорит о хорошей стабилизации имплантатов.

Проведенное гистологическое исследование показало, что имплантаты со структурированной лазером поверхностью не ассоциированы с возникновением каких-либо инфекционных осложнений в костной ткани. Созданный микрорельеф на поверхности имплантатов является привлекательным для клеток костной ткани. Остеоциты располагаются в «лакунах» имплантата, сформированными лазерным микроструктурированием, и тесно связаны отростками друг с другом и с поверхностью имплантата. По-видимому, такое поведение остеобластов связано с корреляцией размеров самих клеток с диаметром лунок и шириной канавок, что соответствует выдвинутой нами гипотезе об оптимальном рельефе.

Проведенный гистоморфометрический анализ позволил оценить такие параметры, характеризующие процесс остеоинтеграции, как BIC- и FIC-индекс. Также оценен такой параметр остеогенеза, связанный с имплантатом, как поверхность, занимаемая остеобластами [83; 130; 158].

Полученные результаты в целом коррелируют с данными, описанные в различных литературных источниках [119; 128]. Имплантат со структурой поверхности по типу «канавки» показал в среднем более высокий индекс BIC (80% на сроке в 3 месяца после операции) и более низкий индекс FIC (20% на сроке в 3 месяца после операции) по сравнению с другими исследованиями с участием имплантатов с лазерной обработкой поверхности [106].

На сроке в 1,5 и 3 месяца процентное соотношение клеток костной ткани (поверхность, занимаемая остеобластами) не изменилось и составило 0,046 % в зоне дентальных имплантатов с К-структурой поверхности. Однако, при сравнении процентного соотношения клеток костной ткани в зоне дентальных имплантатов с Л-структурой поверхности на сроках в 1,5 и 3 месяца было получено достоверное снижение с 0,039% до 0,024%, что свидетельствует о процессе созревания костной ткани, снижения числа остеобластов и трансформация их в остеоциты.

Исходя из данных результатов можно сделать вывод, что лазерное структурирование имплантатов является перспективным методом обработки поверхности, который может влиять на скорость регенерации костной ткани в зоне установленного имплантата и улучшать результаты проводимого имплантологического лечения [71; 162].

Дальнейшими перспективами является изучение и создание различных микрорельефов поверхности имплантатов и проведение сравнительного анализа этих структур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для изучения влияния лазерного воздействия на различные виды тканей в зоне дентальной имплантации была выполнена серия исследований. Для оценки влияния на костную ткань были использованы лабораторные животные (кролики), которым в зоне теменной кости выполнялись аппликации диодными лазерами различных длин волн – 980 нм и 1550 нм. Лазерные воздействия выполнялись в нескольких зонах – на костную ткань через надкостницу, на костную ткань без надкостницы и в области с созданием дефектов. Были выполнены рентгенологическое исследование (конусно-лучевая компьютерная томография), гистологический и гистоморфометрический анализ.

Для оценки влияния лазерного воздействия с применением фракционной лазерной микрокоагуляции было проведено проспективное открытое нерандомизированное исследование, в котором участвовало 60 пациентов. Лазерное воздействие осуществлялось у пациентов с дефицитом прикрепленной кератинизированной десны в зоне имплантации (менее 2 мм) и включало в себя 4 сеанса лазерной терапии. По завершению сеансов производилась оценка увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны и возможности установить формирователи десневой манжетки без дополнительной мягкотканной аугментации и перейти к этапу протезирования с опорой на дентальные имплантаты.

Исследование лазерного структурирования поверхности дентальных имплантатов проводилось в два этапа. Сначала было выполнено исследование *in vitro* для оценки разработанной технологии лазерного формирования морфологии поверхности. Далее с участием лабораторных животных было проведено исследование *in vivo* для оценки стабильности и остеоинтеграции дентальных имплантатов, структурированных иттербиевым лазером. Для изучения стабильности имплантатов был применен метод частотно-резонансного анализа,

а для оценки остеоинтеграции выполнено гистологическое и гистоморфометрическое исследования.

В результате проведенного анализа можно отметить, что воздействие диодными лазерами с длинами волн 980 нм и 1550 нм на костную ткань, а также применение лазера с длиной волны 1550 нм на мягкие ткани в зоне имплантации является безопасным методом воздействия на ткани, не отмечается воспалительных или каких-либо других отрицательных явлений.

Данное воздействие на мягкие ткани также показало свою эффективность. У 60% пациентов возможно безоперационным путем произвести коррекцию ширины прикреплённой кератинизированной десны до необходимой величины (2 мм и более) и установить формирователи десневой манжетки без дополнительной пластики десны в зоне имплантации.

Метод лазерного структурирования имплантатов также показал себя как безопасный и эффективный способ обработки поверхности. Все 60 установленных имплантатов были остеоинтегрированы, отсутствовали признаки воспаления в костной ткани, а также рассчитанные BIC и FIC-индексы соответствовали высокому уровню остеоинтеграции имплантатов. Имеется необходимость в дальнейшем изучении данного метода обработки поверхности, а также изучение и разработка различных морфологий поверхности, так как структурирование имплантатов иттербиевым лазером показало себя как перспективный способ работы с дентальными имплантатами.

ВЫВОДЫ

1. Благодаря применению фракционной лазерной микрокоагуляции происходит увеличения ширины прикрепленной кератинизированной десны в зоне дентальных имплантатов в среднем на 0,90 мм (95% ДИ 0,80-0,90) за 4 сеанса.
2. Разработана методика облучения мягких тканей в зоне дентальной имплантации с использованием фракционной лазерной микрокоагуляции с длиной волны 1550 нм. Оптимальным протоколом является выполнение 4 сеансов лазерной терапии с интервалом в 2 недели между посещениями.
3. Не было зарегистрировано достоверных различий в регенераторном эффекте после воздействия диодными лазерами с длинами волн 980 и 1550 нм на костную ткань. Однако, в 60% случаев отмечалось образование молодой костной ткани в группе животных с созданием дефекта и воздействием на него лазерного излучения на ранних послеоперационных сроках.
4. При сравнительном анализе наименее выраженные процессы деструкции отмечались при использовании диодного лазера с длиной волны 980 нм в зоне с сохраненной надкостницей. Наибольшие изменения были отмечены при использовании лазера с длиной волны 1550 нм с отслоением надкостницы.
5. Обработка поверхности имплантата с использованием иттрибиевого лазера с длиной волны 1064 нм показала, что структура по типу «канавки» имеет лучшие результаты по сравнению со структурой по типу «лунки» при оценке стабильности (76,8 у.е при частотно-резонансном анализе) и остеоинтеграции имплантатов (BIC-индекс поверхности 80%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Методика фракционной лазерной микрокоагуляции представляет из себя альтернативу проведения аугментации мягких тканей в зоне дентальной имплантации при небольших мукогингивальных дефектах. Лазерное воздействие производится в количестве 4 сеансов с интервалом в 2 недели и является безболезненной процедурой.
2. Результаты проведенного *in vivo* исследования имплантатов с лазерным структурированием поверхности явились основанием для получения регистрационного удостоверения на медицинское изделие (дентальные имплантаты «LENMIRIOT») производителем ООО «Техник +» (РУ № РЗН 2020/9622 от 11.02.2020 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аванесян, Р.А. Медицинские возможности и социальные риски дентальной имплантологии / Р.А. Аванесян, Н.Н. Седова. – Москва: РУСЛАЙН, 2015. – 232 с. – Текст: непосредственный.
2. Вольф, Г.Ф. Пародонтология / Г.Ф. Вольф, Э.М. Ратейцхак, Х. Ратейцхак. – Москва: МЕДпресс-информ, 2008. – 548 с. – ISBN: 978-5-00030-132-6. – Текст: непосредственный.
3. Гистологический ответ слизистой оболочки полости рта на фракционный лазерный фототермолиз в эксперименте на животных / Н.Д. Гладкова, Ф.И. Фельдштейн, М.М. Карабут [и др.]. – Текст: непосредственный // Современные технологии в медицине. – 2012. – Т. 3. – С. 7-11.
4. Гистология, эмбриология, цитология : учебник / Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина, Е.Ф. Котовский [и др.]; под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 800 с. – Текст: непосредственный.
5. Гистоморфологические исследования взаимоотношений костной ткани с дентальным имплантатом / А.В. Волков, В.А. Бадалян, А.А. Кулаков [и др.]. – Текст: непосредственный // Биомедицина. – 2012. – Т. 4. – С. 96-100.
6. Давидян, А.Л. Применение свободного соединительнотканного трансплантата для устранения рецессий / А.Л. Давидян. – Текст: непосредственный // Клиническая стоматология. – 2003. – Т. 4. – С. 11-15.
7. Дурново, Е.А. Современные методы ведения послеоперационных дефектов мягких тканей полости рта / Е.А. Дурново, Д.А. Мочалова, Н.Е. Хомутильников. – Текст: непосредственный // Новые технологии в стоматологии : XIX Международная конференция челюстнолицевых хирургов и стоматологов. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 93-94.
8. Звелто, О. Принципы лазеров / О. Звелто. – Санкт-Петербург: Лань, 2008. – 720 с. – Текст: непосредственный

9. Зерницкий, А.Ю. Роль объема мягких тканей вокруг дентальных имплантатов в развитии периимплантита / А.Ю. Зерницкий, Е.Ю. Медведева. – Текст: непосредственный // Институт стоматологии. – 2012. – Т. 54. – С. 80-81.
10. Использование различных методов вертикальной и горизонтальной аугментации при атрофии альвеолярного отростка верхней и альвеолярной части нижней челюстей / А.Г. Гулюк, С.Д. Варжапетян, В.В. Лепский [и др.]. – Текст: непосредственный // ScienceRise. – 2015. – Т. 3. – С. 78-86.
11. Клиническое применение лазерной структурированной микрокоагуляции для лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта / Н.Д. Гладкова, Ю.В. Островская, М.М. Карабут [и др.]. – Текст: непосредственный // Стоматология для всех. – 2013. – Т. 1. – С. 26-28.
12. Коэн, Э.С. Атлас косметической и реконструктивной хирургии пародонта / Э.С. Коэн. – Москва: Практическая медицина, 2011. – 512 с. – Текст: непосредственный.
13. Новая морфометрическая номенклатура для оценки остеоинтеграции внутрикостных имплантатов / А.В. Волков, Б.С. Смбатян, Д.Н. Назарян, А.А. Мураев. – Текст: непосредственный // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10, № 3. – С. 7-13.
14. Оптимизация регенерации минерализованных и мягких тканей челюстно-лицевой области после воздействия излучением Er:YAG лазера / И.В. Тарасенко, Т.П. Вавилова, А.М. Гуторова [и др.]. – Текст: непосредственный // Российский стоматологический журнал. – 2016. – Т. 2. – С. 66-74.
15. Ронь, Г.И. Значение зоны прикрепленной кератинизированной десны для здоровых пациентов и имеющих воспалительные заболевания пародонта / Г.И. Ронь, С.С. Смирнова. – Текст: непосредственный // Уральский медицинский журнал. – 2008. – Т. 50, № 10. – С. 55-58.

16. Февралёва, А.Ю. Устранение рецессии десны. Планирование, современные методы лечения, прогноз / А.Ю. Февралёва, А.Л. Давидян. – Москва: Поли Медиа Пресс, 2007. – 152 с. – Текст: непосредственный
17. Экспериментальное биомоделирование для оценки возможности изменения морфотипа слизистой оболочки полости рта / Г.Д. Капанадзе, М.В. Ломакин, А.С. Алейников [и др.]. – Текст: непосредственный // Биомедицина. – 2011. – Т 3. – С. 19-24.
18. Яраш, Г.П. Оценка психоэмоционального статуса пациентов до и после имплантации зубов / Г.П. Яраш. – Текст: непосредственный // Университетская медицина Урала. – 2016. – Т. 2. – С. 69-70.
19. Яременко, А.И. Экспериментальное изучение фракционного лазерного воздействия на регенерацию костной ткани в зоне аугментации / А.И. Яременко, А.Ю. Зерницкий, Е.А. Зерницкая. – Текст: непосредственный // Пародонтология. – 2016. – Т. 78, № 1. – С. 18-21.
20. A longitudinal evaluation of varying widths of attached gingiva / J.E. Kennedy, W.C. Bird, K.G. Palcanis, H.S. Dorfman. – Текст: непосредственный // J. Clin. Periodontol. – 1985. – Vol. 12. – P. 667-675.
21. A randomized, controlled, clinical study on a new titanium oxide abutment surface for improved healing and soft tissue health / J. Hall, J. Neilands, J. Davies [et al.]. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent Relat. Res. – 2019. – Vol. 21. – P. 55-68.
22. Abolfazli, N. Effect of low-level laser therapy and autogenous bone graft on bone regeneration in the treatment of two wall and three wall intrabony periodontal defects: a clinical study / N. Abolfazli, S. Sadighi, S. Rikhtegaran. – Текст: непосредственный // Laser Med. – 2012. – Vol. 8. – P. 6-14.
23. Agudio, G. Periodontal Conditions of Sites Treated With Gingival-Augmentation Surgery Compared to Untreated Contralateral Homologous Sites: A 10- to 27-Year Long-Term Study / G. Agudio, M. Nieri, R. Rotundo. – Текст: непосредственный // J. Periodontol. – 2009. – Vol. 80, № 9. – P. 1399-1405.

24. Aihara, N. Low-energy irradiation stimulates formation of osteoclast-like cells via RANK expression in vitro / N. Aihara, M. Yamaguchi, K. Kasai. – Текст: непосредственный // *Lasers Med. Sci.* – 2006. – Vol. 21, № 1. – P. 24-33.
25. Albrektsson, T. On osseointegration in relation to implant surfaces / T. Albrektsson, A. Wennerberg. – Текст: непосредственный // *Clin. Implant Dent. Related Res.* – 2019. – Vol. 21. – P. 4-7.
26. Allemann, I.B. Fractional photothermolysis– an update / I.B. Allemann, J. Kaufman. – Текст: непосредственный // *Lasers Med. Sci.* – 2010. – Vol. 25. – P. 137-144.
27. Almas, K. What Is the Best Micro and Macro Dental Implant Topography? / K. Almas, S. Smith, A. Kutkut. – Текст: непосредственный // *Dent. Clin. NA.* – 2019. – Vol. 63. – P. 447-460.
28. Alpert, A. A rationale for attached gingiva at the soft-tissue/implant interface: esthetic and functional dictates / A. Alpert. – Текст: непосредственный // *Compend. Cont. Educ. Dent.* – 1994. – Vol. 15. – P. 302-315.
29. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining / C. Hallgren, H. Reimers, D. Chakarov [et al.]. – Текст: непосредственный // *Biomaterials.* – 2003. – Vol. 24, № 5. – P. 701-710.
30. An 18-Year Longitudinal Study of Untreated Mucogingival Defects / A. Freedman, K. Green, L. Salkin, M. Stein. – Текст: непосредственный // *J. Periodontol.* – 1999. – Vol. 70, № 10. – P. 1174-1176.
31. Anselme, K. Relative influence of surface topography and surface chemistry on cell response to bone implant materials. Part 2: biological aspects / K. Anselme, A. Ponche, M. Biggerelle. – Текст: непосредственный // *Proc. Inst. Mech. Eng.* – 2010. – Vol. 224, № 12. – P. 1487-1507.
32. Arany, P. Activation of latent TGF-beta1 by low-power laser in vitro correlates with increased TGF-beta1 levels in laser-enhanced oral wound healing / P. Arany, R. Nayak, S. Hallikerimath. – Текст: непосредственный // *Wound Repair Regen.* – 2007. – Vol. 15. – P. 866-874.

33. Araújo, M. Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation / M. Araújo, J. Wennström, J. Lindhe. – Текст: непосредственный // Clin. Oral Implants Res. – 2006. – Vol. 17. – P. 606-614.
34. Atalay, M. Heat shock proteins in diabetes and wound healing / M. Atalay, N. Oksala, J. Lappalainen. – Текст: непосредственный // Curr. Protein Pept. Sci. – 2009. – Vol. 10. – P. 85-95.
35. Beagle, J.R. Developing Keratinized Mucosa Around Nonsubmerged Dental Implants. Part II: The Use of Non-Vascularized Soft-Tissue Grafts / J.R. Beagle. – Текст: непосредственный // Periodontal Practice Today. – 2005. – Vol. 2, № 4. – P. 259-266.
36. Bengazi, F. Recession of the soft tissue margin at the oral implants. A 2-year longitudinal prospective study / F. Bengazi, J. Wennstrom, U. Lekholm. – Текст: непосредственный // Clin. Oral Implants Res. – 1996. – Vol. 7. – P. 303-310.
37. Biocompatibility evaluation of nanosecond laser treated titanium surfaces / R. Honda, M. Mizutani, H. Ohmori, J. Komotori. – Текст: непосредственный // Int. J. Modern Physics: Conference Series. – 2012. – Vol. 6. – P. 682-687.
38. Bjorn, H. Free transplantation of gingiva propria / H. Bjorn. – Текст: непосредственный // Tandlakarforbrinds Tidning. – 1963. – Vol. 55. – P. 684-689.
39. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study / L. Schropp, A. Wenzel, L. Kostopoulos, T. Karring. – Текст: непосредственный // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2003. – Vol. 23. – P. 313-323.
40. Bone level variation after vertical ridge augmentation: resorbable barriers versus titanium-reinforced barriers. A 6-year double-blind randomized clinical trial / M. Merli, M. Moscatelli, G. Mariotti [et al.]. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2014. – Vol. 29. – P. 905-913.
41. Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration: a report of two cases / S. Nyman, N. Lang, D. Buser, U. Bragger. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofac. Implant. – 1990. – Vol. 5, № 1. – P. 9-14.

42. Buser, D. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. Part 2: Surgical procedures in the mandible / D. Buser, K. Dula, U. Belser. – Текст: непосредственный // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 1995. – Vol. 1. – P. 11-29.
43. Characteristics of Surface Layers of Ti6Al4V Implants / J. Szewczenko M. Basiaga, M. Grygiel-Pradelok, M. Kaczmarek. – Текст: непосредственный // Advances Intelligent Syst. Computing. – 2017. – Vol. 526. – P. 76-84.
44. Clinical and histologic studies of donor tissues for free grafts of masticatory mucosa / E. Soehren, A. Allen, D. Cutright, J. Seibert. – Текст: непосредственный // J. Periodontol. – 1973. – Vol. 44. – P. 727-736.
45. Clinical study of laser biomodulation (650 k) after free gingival grafts / J. Vieira, C. Lopes, A. DeMarco [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Oral Laser Applications. – 2010. – Vol. 10. – P. 159-163.
46. Comparative histological analysis of bone healing of standardized bone defects performed with the Er: YAG laser and steel burs / E.D. De Mello, R. Pagnoncelli, E. Munin [et al.]. – Текст: непосредственный // Laser. Med. Sci. – 2008. – Vol. 23, № 3. – P. 253-260.
47. Comparison of early healing process of bone tissue after irradiation by Er: YAG laser and CO2 laser / A. Pourzarandian, H. Watanabe, A. Aoki [et al.]. – Текст: непосредственный // Int. Congr. Ser. – 2003. – Vol. 1248. – P. 385.
48. Convissar, R. A. Principles and practice of laser dentistry / R. Convissar. – 2nd edition. – Elsevier Health Sciences, 2015. – 326 p. – Текст: непосредственный
49. Cooper, L. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants / L. Cooper. – Текст: непосредственный // J. Prosthet. Dent. – 2000. – Vol. 84, № 5. – P. 522-534.
50. Coronally advanced flap with and without connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recessions: a comparative short- and long-term controlled randomized clinical trial / G. Zucchelli, I. Mounssif, C. Mazzotti, M. Stefanini. – Текст: непосредственный // J. Periodontol. – 2014. – Vol. 41, № 4. – P. 396-403.

51. Different laser wavelengths comparison in the second-stage implant surgery: an ex vivo study / C. Fornaini, E. Merigo, P. Vescovi [et al.]. – Текст: непосредственный // *Lasers Med. Sci.* – 2015. – Vol. 30, № 6. – P. 1631-1639.
52. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues / I. Ericsson, L. Persson, T. Berglundh [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Clin. Periodontol.* – 1995. – Vol. 22. – P. 255-261.
53. Direct assessment of profilometric roughness variability from typical implant surface types / S. Kohles, M. Clark, C. Brown, J. Kenealy. – Текст: непосредственный // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2004. – Vol. 19. – P. 510-516.
54. Does bone mineral density influence the primary stability of dental implants? A systematic review / M. Marquezan, A. Osório, E. Sant'Anna [et al.]. – Текст: непосредственный // *Clin. Oral Implants Res.* – 2012. – Vol. 23. – P. 767-774.
55. Does laser therapy improve the wound healing process after tooth extraction? A systematic review / C. Lemes, C. Sonogo, B. Lemes, R. Moraes. – Текст: непосредственный // *Wound Rep. Reg.* – 2019. – Vol. 27. – P. 102-113.
56. Dorfman, H.S. Longitudinal evaluation of free autogenous gingival grafts. A four year report / H.S. Dorfman, J.E. Kennedy, W.C. Bird. – Текст: непосредственный // *J. Periodontol.* – 1982. – Vol. 53. – P. 349-352.
57. Dyer, B. Minimally invasive periodontal treatment using the Er, Cr: YSGG laser. A 2-year retrospective preliminary clinical study / B. Dyer, E. Sung. – Текст: непосредственный // *Open Dentist. J.* – 2012. – Vol. 6. – P. 74-78.
58. Early bone response to machined, sandblasting acid etching (SLA) and novel surface-functionalization (SLAffinity) titanium implants: characterization, biomechanical analysis and histological evaluation in pigs / H. Chiang, H. Hsu, P. Peng [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2016. – Vol. 104. – P. 397-405.
59. Effect and Clinical Implications of the Low-Energy Diode Laser on Bone Cell Proliferation / R. Huertas, E. De Luna-Bertos, J. Ramos-Torrecillas [et al.]. –

- Текст: непосредственный // Biol. Res. Nurs. – 2013. – Vol. 16, № 2. – P. 191-196.
60. Effect of a low-level laser on bone regeneration after rapid maxillary expansion / F. Cepera, F. Torres, M. Scanavini [et al.]. – Текст: непосредственный // Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop. – 2012. – Vol. 141, № 4. – P. 444-450.
 61. Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study) / N. AboElsaad, M. Soory, L. Gadalla [et al.]. – Текст: непосредственный // Lasers Med. Sci. – 2009. – Vol. 24. – P. 387-395.
 62. Effect of titanium surface topographies on human bone marrow stem cells differentiation in vitro / V. Perrotti, A. Palmieri, A. Pellati [et al.]. – Текст: непосредственный // Odontology. – 2013. – Vol. 101, № 2. – P. 133-139.
 63. Effect of 830 nm laser phototherapy on osteoblasts grown in vitro on Biosilicate scaffolds / A. Renno, P. McDonnell, M. Crovace, E. Zanutto. – Текст: непосредственный // Photomed. Laser Surg. – 2010. – Vol. 28, № 1. – P. 131-133.
 64. Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts / S. Bouvet-Gerbetaz, E. Merigo, J. Rocca [et al.]. – Текст: непосредственный // Lasers Surg. Med. – 2009. – Vol. 41, № 4. – P. 291-297.
 65. Effects of low-level laser therapy on the expression of osteogenic genes related in the initial stages of bone defects in rats / K. Fernandes, D. Ribeiro, N. Rodrigues [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Biomed. Opt. – 2013. – Vol. 18, № 3. – P. 38-45.
 66. Efficacy of Low-Level Laser Therapy in Treatment of Recurrent Aphthous Ulcers – A Sham Controlled, Split Mouth Follow Up Study / H. Aggarwal, M. Singh, P. Nahar, H. Mathur. – Текст: непосредственный // J. Clin. Diagn. Res. – 2014. – Vol. 8, № 2. – P. 218-221.
 67. El-Maghraby, E. Assessment of the effect of low-energy diode laser irradiation on gamma irradiated rats' mandibles / E. El-Maghraby, D. El-Rouby, A. Saafan. – Текст: непосредственный // Arch. Oral Biol. – 2013. – Vol. 58, № 7. – P. 796-805.

68. Enhanced wound healing effect of canine adipose-derived mesenchymal stem cells with low-level laser therapy in athymic mice / H. Kim, K. Choi, O. Kweon, W. Kim. – Текст: непосредственный // J. Dermatol. Sci. – 2012. – Vol. 68, № 3. – P. 149-156.
69. Erb: YAG and Hol: YAG laser osteotomy: the effect of laser ablation on bone healing / M. Buchelt, H. Kutschera, T. Katterschafka [et al.]. – Текст: непосредственный // Laser. Surg. Med. – 1994. – Vol. 15, № 4. – P. 373-381.
70. Er: YAG laser, piezosurgery, and surgical drill for bone decortication during orthodontic mini-implant insertion: primary stability analysis– an animal study / J. Matys, R. Flieger, G. Tenore [et al.]. – Текст: непосредственный // Lasers Med. Sci. – 2018. – Vol. 33, № 3. – P. 489-495.
71. Evaluation of a new laser surface implant: scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray and X-ray photoelectron spectroscopy analyses / D. Berardi, M. Colagiovanni, A. Scoccia [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2008. – Vol. 22. – P. 161-167.
72. Evaluation of a novel oral mucosa in vitro implantation model for analysis of molecular interactions with dental abutment surfaces / S. Roffel, G. Wu, I. Nedeljkovic [et al.]. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent. Relat. Res. – 2019. – Vol. 21. – P. 25-33.
73. Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies) / N. Korany, S. Mehanni, H. Hakam, E. El-Maghraby. – Текст: непосредственный // Arch. Oral Biol. – 2012. – Vol. 57, № 7. – P. 884-891.
74. Evaluation of the effect of 660 nm low power laser on pain and healing in palatal donor site: a randomized controlled clinical trial / N. Moslemi, M. Heidari, R. Fekrazad [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Dent. Med. – 2014. – Vol. 27. – P. 71-77.
75. Evian, C. Soft tissue augmentation for implant dentistry / C. Evian, J. Maseeh, E. Symeonides. – Текст: непосредственный // Compend. Contin. Educ. Dent. – 2003. – Vol. 24. – P. 195-204.

76. Extending neurites sense the depth of the underlying topography during neuronal differentiation and contact guidance / J.S. Chua, C.P. Chng, A.A. Moe [et al.]. – Текст: непосредственный // *Biomaterials*. – 2014. – Vol. 35. – P. 7750-7761.
77. Fractal analysis: a novel method to assess roughness organization of implant surface topography / V. Perrotti, G. Aprile, M. Degidi [et al.]. – Текст: непосредственный // *Int. J. Periodontics Restorative Dent*. – 2011. – Vol. 31, № 6. – P. 633-639.
78. Goyal, N. Effect Of Various Implant Surface Treatments On Osseointegration-A Literature Review / N. Goyal, R. Kaur. – Текст: непосредственный // *Indian J. Dental Sci*. – 2012. – Vol. 4. – P. 154-157.
79. Gray, P.I. The Microtometist's formulary and guide / P.I. Gray. – New York, Toronto, 1954. – 816 p. – Текст: непосредственный
80. Hantash, B. In vivo histological evaluation of a novel ablative fractional resurfacing device / B. Hantash, V. Bedi, B. Kapadia. – Текст: непосредственный // *Lasers Surg. Med*. – 2007. – Vol. 39. – P. 96-107.
81. Helbig, D. Molecular changes during skin aging and wound healing after fractional ablative photothermolysis / D. Helbig, U. Paasch. – Текст: непосредственный // *Skin Res. Technol*. – 2011. – Vol. 17. – P. 119-129.
82. High-Frequency Pulsed Low-Level Diode Laser Therapy Accelerates Wound Healing of Tooth Extraction Socket: An In Vivo Study / M. Noda, A. Aoki, K. Mizutani [et al.]. – Текст: непосредственный // *Lasers Surg. Med*. – 2016. – Vol. 48. – P. 955-964.
83. Histological and histomorphometric analysis of animal experimental dehiscence defect treated with three bio absorbable GTR collagen membrane / P. Behfarnia, M. Khorasani, R. Birang, F. Abbas. – Текст: непосредственный // *Dent. Res. J*. – 2012. – Vol. 9, № 5. – P. 574-581.
84. Histomorphometric evaluation of the effects of various diode lasers and force levels on orthodontic mini screw stability / M. Goymen, E. Isman, L. Taner, M. Kurkcu. – Текст: непосредственный // *Photomed. Laser Surg*. – 2015. – Vol. 33, № 1. – P. 29-34.

85. Hsiao, F. Recent Advances in Fractional Laser Resurfacing: New Paradigm in Optimal Parameters and Post-Treatment Wound / F. Hsiao, G. Bock, D. Eisen. – Текст: непосредственный // *Advances Wound Care*. – 2012. – Vol. 1. – P. 207-212.
86. Influence of implant shape, surface morphology, surgical technique and bone quality on the primary stability of dental implants / C. Eliasa, F. Rocha, A. Nascimento, P. Coelho. – Текст: непосредственный // *J. Mechan. Behavior Biomed. Materials*. – 2012. – Vol. 16, № 1. – P. 169-180.
87. Into the paradigm of local factors as contributors for periimplant disease: Short communication / A. Monje, P. Galindo-Moreno, T. Tözüm [et al.]. – Текст: непосредственный // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. – 2016. – Vol. 31. – P. 288-292.
88. Investigation of low-level laser therapy potentiality on proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in the absence/presence of osteogenic factors / N. Bloise, G. Ceccarelli, P. Minzioni [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Biomed. Optics*. – 2013. – Vol. 18, № 12. – P. 128-133.
89. Jacques, S.L. Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical / S.L. Jacques. – Текст: непосредственный // *Surg. Clin. NA*. – 1992. – Vol. 72. – P. 531-558.
90. Javed, F. The role of primary stability for successful immediate loading of dental implants. A literature review / F. Javed, G. Romanos. – Текст: непосредственный // *J. Dentistry*. – 2010. – Vol. 38, № 8. – P. 612-620.
91. Johansson, C. Ex vivo and in vivo biomechanical test of implant attachment to various materials: introduction of a new user-friendly removal torque equipment / C. Johansson, R. Jimbo, P. Stefenson. – Текст: непосредственный // *Clin. Implant Dent. Relat. Res*. – 2010. – Vol. 17. – P. 66.
92. Karring, T. Conservation of tissue specificity after heterotropic transplantation of gingiva an. alveolar mucosa / T. Karring, E. Ostergard, H. Loe. – Текст: непосредственный // *J. Periodontal. Res*. – 1971. – Vol. 6. – P. 282-293.

93. Karring, T. The role of connective tissue in determining epithelial differentiation / T. Karring, N. Lang, H. Loe. – Текст: непосредственный // J. Periodontal Res. – 1974. – Vol. 10. – P. 1303-1304.
94. Khoury, F. Mandibular Bone Block Harvesting from the Retromolar Region: a 10-years prospective clinical study / F. Khoury, T. Hanser. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2015. – Vol. 30. – P. 688-697.
95. Khoury, F. Mandibular bone blocks grafts: instrumentation, harvesting technique and application / C. Khoury. – Текст: непосредственный // J. Parodontol. Implantol. Orale. – 2006. – Vol. 25, № 1. – P. 15-34.
96. Khoury, F. Three-Dimensional Vertical Alveolar Ridge Augmentation in the Posterior Maxilla: A 10-year Clinical Study / F. Khoury, T. Hanser. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2017. – Vol. 34. – P. 471-480.
97. Kopf, B. The role of nanostructures and hydrophilicity in osseointegration: In-vitro protein-adsorption and blood-interaction studies / B. Kopf, S. Ruch, S. Berner. – Текст: непосредственный // Spencer J. Biomed. Materials Res. – 2015. – Vol. 103. – P. 2661-2672.
98. Kumar, S. Expression of interleukin 1-inducible genes and production of interleukin 1 by aging human fibroblasts / S. Kumar, A. Millis, C. Baglioni. – Текст: непосредственный // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – Vol. 89. – P. 4683-4687.
99. Kurkinen, M. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue / M. Kurkinen, A. Vaheri, P. Roberts. – Текст: непосредственный // Lab. Invest. – 1980. – Vol. 43. – P. 47-51.
100. Lang, N. The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health / N. Lang, H. Loe. – Текст: непосредственный // J. Periodontology. – 1972. – Vol. 43. – P. 623-627.

101. Laser-induced osteoblast proliferation is mediated by ROS production / M. Migliario, P. Pittarella, M. Fanuli [et al]. – Текст: непосредственный // *Lasers Med. Sci.* – 2014. – Vol. 29, № 4. – P. 1463-1467.
102. Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO₂ and Nd: YAG lasers / L. Friesen, C. Cobb, J. Rapley [et al.]. – Текст: непосредственный // *Periodontol.* – 1999. – Vol. 70, № 1. – P. 75-83.
103. Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO₂ and Nd: YAG lasers / V.G. McDavid, C.M. Cobb, J.W. Rapley, A.G. Glaros. – Текст: непосредственный // *Periodontol.* – 2001. – Vol. 72, № 2. – P. 174-182.
104. Laser microablative tunnel formation to initiate alveolar bone regeneration. Pilot ex vivo study / M. Karabut, A. Belikov, A. Skripnik [et al.]. – Текст: непосредственный // *Sovremen. Tehnol. Med.* – 2013. – Vol. 5, № 4. – P. 6-18.
105. Laubach, H. Skin responses to fractional photothermolysis / H. Laubach, Z. Tannous, R. Anderson. – Текст: непосредственный // *Lasers Surg. Med.* – 2006. – Vol. 38. – P. 142-149.
106. Lee, J. Biomechanical evaluation of laser-etched Ti implant surfaces vs. chemically modified SLA Ti implant surfaces: Removal torque and resonance frequency analysis in rabbit tibias / J. Lee, S. Cho. – Текст: непосредственный // *J. Mechan. Behavior Biomed. Materials.* – 2016. – Vol. 61. – P. 299-307.
107. Lindquist, L. Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: a 10-year follow-up study / L. Lindquist, G. Carlsson, T. Jemt. – Текст: непосредственный // *J. Dent. Res.* – 1997. – Vol. 76. – P. 1667-1674.
108. Liu, H. Laser induced collagen remodeling: a comparative study in vivo on mouse model / H. Liu, Y. Dang, Z. Wang. – Текст: непосредственный // *Lasers Surg. Med.* – 2008. – Vol. 40. – P. 13-19.
109. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro / A. Stein, D. Benayahu, L. Maltz, U. Oron. – Текст: непосредственный // *Photomed. Laser Surgery.* – 2005. – Vol. 23, № 2. – P. 161-166.

110. Low-level laser therapy improves peri-implant bone formation: resonance frequency, electron microscopy, and stereology findings in a rabbit model / F. Gomes, L. Mayer, F. P. Massotti [et al.]. – Текст: непосредственный // *Int. J. Oral Maxillofacial Surg.* – 2015. – Vol. 44, № 2. – P. 245-251.
111. Low-level laser therapy stimulates bone–implant interaction: an experimental study in rabbits / M. Khadra, H. Rønold, S. Lyngstadaas [et al.]. – Текст: непосредственный // *Clin. Oral Implants Res.* – 2004. – Vol. 15, № 3. – P. 325-332.
112. Maiorana, C. Reduction of autogenous bone graft resorption by means of bio-oss coverage: a prospective study / C. Maiorana, M. Beretta, S. Salina. – Текст: непосредственный // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2005. – Vol. 25. – P. 19-25.
113. Manstein, D. Fractional photothermolysis: a new concept for cutaneous remodeling using microscopic patterns of thermal injury / D. Manstein, G. Herron, R. Sink. – Текст: непосредственный // *Lasers Surg. Med.* – 2004. – Vol. 34, № 5. – P. 426-438.
114. Matys, J. Assessment of pain when uncovering implants with Er:YAG laser or scalpel for second stage surgery / J. Matys, M. Dominiak. – Текст: непосредственный // *Advances Clin. Exp. Med.* – 2016. – Vol. 25, № 6. – P. 1179-1184.
115. Matys, J. Assessment of temperature rise and time of alveolar ridge splitting by means of Er: YAG laser, piezosurgery, and surgical saw: an ex vivo study / J. Matys, R. Flieger, M. Dominiak. – Текст: непосредственный // *BioMed Research International.* – 2016. – Vol. 23. – P. 550-558.
116. Matys, J. Effect of diode lasers with wavelength of 445 and 980 nm on a temperature rise when uncovering implants for second stage surgery: an ex-vivo study in pigs / J. Matys, R. Flieger, M. Dominiak. – Текст: непосредственный // *Advances Clin. Exp. Med.* – 2017. – Vol. 26, № 4. – P. 687-693.
117. Matys, J. Schneiderian membrane perforation rate and increase in bone temperature during maxillary sinus floor elevation by means of Er: YAG laser-an

- animal study in pigs / J. Matys, J. Hadzik, M. Dominiak. – Текст: непосредственный // *Implant Dent.* – 2017. – Vol. 26, № 2. – P. 238-244.
118. McKenzie, A.L. Physics of thermal processes in laser-tissue interaction / A.L. McKenzie. – Текст: непосредственный // *Phys. Med. Biol.* – 1990. – Vol. 35. – P. 1175-1209.
119. Mechanical, histological and histomorphometric evaluation of modified by femtosecond laser zirconia implants versus titanium implants. An experimental study in dogs at three months / J.L. Calvo-Guirado, C. Perez-Albacete Martínez, B. Negri [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Osseointegr.* – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 19-26.
120. Meredith, N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant / N. Meredith. – Текст: непосредственный // *Int. J. Prosthodontics.* – 1998. – Vol. 11, № 5. – P. 491-501.
121. Ming, J. Fractional Photothermolysis: A Review and Update / J. Ming, A. Kimyai-Asadi. – Текст: непосредственный // *Semin. Cutan. Med. Surg.* – 2008. – Vol. 27. – P. 63-71.
122. Mohammed, I. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low-level laser therapy / I. Mohammed, N. Al-Mustawfi, L. Kaka. – Текст: непосредственный // *Photomed. Laser Surg.* – 2007. – Vol. 25, № 2. – P. 107-111.
123. Mucosal considerations foe osseointegrated implants / Z. Artzi, H. Tal, O. Moses, A. Kozlovsky. – Текст: непосредственный // *J. Prosthet. Dent.* – 1993. – Vol. 70. – P. 427-432.
124. Nabers, C. Free gingival graft / C. Nabers. – Текст: непосредственный // *Periodontics.* – 1966. – Vol. 4. – P. 243-245.
125. Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation / L. Meirelles, A. Arvidsson, M. Andersson [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Biomed. Materials Res.* – 2008. – Vol. 87. – P. 299-307.
126. Nguyen, A.T. From nano to micro: topographical scale and its impact on cell adhesion, morphology and contact guidance / A.T. Nguyen, S.R. Sathe, E.K. Yim.

- Текст: непосредственный // J. Physics: Condensed Matter. – 2016. – Vol. 28, № 18. – P. 1-16.
127. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-toimplant anchorage in man / T. Albrektsson, P. Brånemark, H. Hansson, J. Lindström. – Текст: непосредственный // Act. Orthop. Scand. – 1981. – Vol. 52, № 2. – P. 155-170.
 128. Osseointegration of zirconia dental implants modified by femtosecond laser vs. zirconia implants in healed bone: a histomorphometric study in dogs with three-month follow-up / J.L. Calvo-Guirado, M. Ramos-Oltra, B. Negri [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Osseointegr. – 2013. – Vol. 5, № 3. – P. 39-44.
 129. Östman, P. Ten years later. Results from a prospective single-centre clinical study on 121 oxidized (TiUnite™) Brånemark implants in 46 patients / P. Östman, M. Hellman, L. Sennerby. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent. Relat. Res. – 2012. – Vol. 14, № 6. – P. 852-860.
 130. Parfitt, A.M. Bone histomorphometry: proposed system for standardization of nomenclature, symbols, and units / A.M. Parfitt. – Текст: непосредственный // Calcif. Tissue Int. – 1988. – Vol. 42, № 5. – P. 284-286.
 131. Park, J. Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study / J. Park, K. Kang. – Текст: непосредственный // Lasers Med. Sci. – 2012. – Vol. 27. – P. 223-230.
 132. Patients' perspectives on dental implant and bone graft surgery: questionnaire-based interview survey / M. Hof, G. Tepper, B. Semo [et al.]. – Текст: непосредственный // Clin. Oral Implants Res. – 2014. – Vol. 1. – P. 42-45.
 133. Perio, D. Periodontal Bone Regeneration and the Er, Cr: YSGG Laser: A Case Report / D. Perio. – Текст: непосредственный // Open Dent. J. – 2013. – Vol. 7. – P. 16-19.
 134. Periodontal and peri-implant wound healing following laser therapy / A. Aoki, K. Mizutani, F. Schwarz [et al.]. – Текст: непосредственный // Periodontology 2000. – 2015. – Vol. 68, № 1. – P. 217-269.

135. Platelet derived growth factor secretion and bone healing after Er: YAG laser bone irradiation / G. Kesler, D. Shvero, Y. Tov, G. Romanos. – Текст: непосредственный // J. Oral Implant. – 2011. – Vol. 37. – P. 195-204.
136. Puleo, D. Understanding and controlling the bone-implant interface / D. Puleo, A. Nanci. – Текст: непосредственный // Biomaterials. – 1999. – Vol. 20, № 23. – P. 2311-2321.
137. Quantitative in vitro comparison of the thrombogenicity of commercial dental implants / V. Milleret, P. Lienemann, S. Bauer, M. Ehrbar. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent. Related Res. – 2019. – Vol. 21. – P. 8-14.
138. Raghavendra, S. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature / S. Raghavendra, M. Wood, T. Taylor. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofacial Implants. – 2005. – Vol. 20, № 3. – P. 425-431.
139. Raimbault, O. The effects of femtosecond laser-textured ti-6al-4v on wettability and cell response / O. Raimbault. – Текст: непосредственный // Materials Sci. Engineering. – 2016. – Vol. 69. – P. 311-320.
140. Rapid osseointegration of titanium implant with innovative nanoporous surface modification: animal model and clinical trial / M. Huang, L. Chen, K. Ou [et al.]. – Текст: непосредственный // Implant Dent. – 2015. – Vol. 24. – P. 441-447.
141. Ratertschak, K. Recession; A 4-year longitudinal study after free gingival grafts / K. Ratertschak, U. Egli, G. Fringeli. – Текст: непосредственный // J. Clin. Periodontol. – 1979. – Vol. 6. – P. 158-164.
142. Rational design and in vitro characterization of novel dental implant and abutment surfaces for balancing clinical and biological needs / V. Milleret, P. Lienemann, A. Gasser [et al.]. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent. Related Res. – 2019. – Vol. 21. – P. 15-24.
143. Ravanti, L. Matrix metalloproteinases in wound repair (review) / L. Ravanti, V. Kahari. – Текст: непосредственный // Int. J. Mol. Med. – 2000. – Vol. 6. – P. 391-407.

144. Relevant aspects in the surface properties in titanium dental implants for the cellular viability / E. Velasco-Ortega, C. Alfonso-Rodríguez, L. Monsalve-Guil [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Materials Sci. Engineering. – 2016. – Vol. 64. – P. 1-10.
145. Rosenquist, B. A comparison of various methods of soft tissue management following the immediate placement of implants into extraction sockets / B. Rosenquist. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 1997. – Vol. 12. – P. 43-51.
146. Safety and efficacy of a novel, gradually anodized dental implant surface: A study in Yucatan mini pigs / C. Susin, F. Stadler, M. Musskopf, M. Rabelo. – Текст: непосредственный // Clin. Implant Dent. Relat. Res. – 2019. – Vol. 21. – P. 44-54.
147. Salvi, G. Diagnostic Parameters for Monitoring Peri-implant Conditions / G. Salvi, E. Giovanni, N. Lang. – Текст: непосредственный // Int. J. Oral Maxillofacial Implants. – 2004. – Vol. 19. – P. 116-127.
148. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces. A comparative study / A. Gaggl, G. Schultes, W. Muller, H. Karcher. – Текст: непосредственный // Biomaterials. – 2000. – Vol. 21, № 10. – P. 1067-1073.
149. Schwarz, G.M. Laser-assisted treatment of peri-implantitis: a retrospective cohort study / G.M. Schwarz, D.M. Harris. – Текст: непосредственный // Gen Dent. – 2020. – Vol. 68, № 3. – P. 18-25.
150. Selective laser melting of titanium alloy enables osseointegration of porous multi-rooted implants in a rabbit model / W. Peng, L. Xu, J. You [et al.]. – Текст: непосредственный // Biomed. Eng. Online. – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 85.
151. Shantipriya, R. Essentials of Clinical Periodontology & Periodontics / R. Shantipriya. – 5th Edition. – 2018. – 500 p. – Текст: непосредственный
152. Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces / D.M. Chung, T.J. Oh, J.L. Shotwell [et al.]. – Текст: непосредственный // J. Periodontol. – 2006. – Vol. 77. – P. 1410-1420.

153. Simitzi, C. Controlling the morphology and outgrowth of nerve and neuroglial cells: The effect of surface topography / C. Simitzi, A. Ranella, E. Stratakis. – Текст: непосредственный // *Acta Biomaterialia*. – 2017. – Vol. 51. – P. 21-52.
154. Smith, D. Dental implant materials. Some effects of preparative procedures on surface topography / D. Smith, R. Pilliar, R. Charnock. – Текст: непосредственный // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1991. – Vol. 25. – P. 1045-1068.
155. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog / T. Berglundh, J. Lindhe, C. Marinell [et al.]. – Текст: непосредственный // *Clin. Oral Implant Res.* – 1992. – Vol. 3. – P. 1-8.
156. Squier, C.A. The permeability of keratinized and nonkeratinized oral epithelium to horseradish peroxidase / C.A. Squier. – Текст: непосредственный // *J. Ultrastruct. Res.* – 1973. – Vol. 43. – P. 160-167.
157. Squier, C.A. The permeability of keratinized and nonkeratinized oral epithelium to lanthanum in vivo / C.A. Squier, L. Rooney. – Текст: непосредственный // *J. Ultrastruct. Res.* – 1976. – Vol. 54. – P. 86-95.
158. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee / D.W. Dempster, J.E. Compston, M.K. Drezner [et al.]. – Текст: непосредственный // *J. Bone Miner. Res.* – 2013. – Vol. 28, № 1. – P. 2-17.
159. Sullivan, H. Free autogenous gingival grafts. Principles of successful grafting / H. Sullivan, J. Atkins. – Текст: непосредственный // *Periodontics*. – 1968. – Vol. 6. – P. 5-13.
160. Supracrestal bone formation around dental implants: an experimental dog study / S. Jovanovich, R. Schenk, M. Orsini, E. Kenney. – Текст: непосредственный // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. – 1995. – Vol. 10. – P. 23-31.
161. Surface characteristics and bioactivity of oxide films formed by anodic spark oxidation on titanium in 70 / H. Song, S. Park, S. Jeong, Y. Park. – Текст: непосредственный // *J. Materials Proc. Technol.* – 2009. – Vol. 209, № 2. – P. 864-870.

162. Surface contaminants inhibit osseointegration in a novel murine model / L. Bonsignore, R. Colbrunn, J. Tatro [et al.]. – Текст: непосредственный // Bone. – 2011. – Vol. 49, № 5. – P. 923-930.
163. Surface Modifications and Their Effects on Titanium. Dental Implants / A. Jemat, M. Ghazali, M. Razali, Y. Otsuka. – Текст: непосредственный // Biomed Res. Int. – 2015. – Vol. 15. – P. 1-11.
164. Tan, J. Biomaterials with hierarchically defined micro- and nanoscale structure / J. Tan, W. Saltzman. – Текст: непосредственный // Biomaterials. – 2004. – Vol. 25. – P. 3593-3601.
165. Ten-year results of a three-arm prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients. Part 1: implant loss and radiographic bone loss / M. Roccuzzo, N. De Angelis, L. Bonino, M. Aglietta. – Текст: непосредственный // Clin. Oral Implant Res. – 2010. – Vol. 21, № 5. – P. 490-496.
166. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature / L. Woodruff, J. Bounkeo, W. Brannon [et al.]. – Текст: непосредственный // Photomed. Laser Surg. – 2004. – Vol. 22, № 3. – P. 241-247.
167. The psychological cycle behind dental appointment attendance: a cross-sectional study of experiences, anticipations, and behavioral intentions / A. Schneider, J. Andrade, K. Tanja-Dijkstra [et al.]. – Текст: непосредственный // Community Dent. Oral Epidemiol. – 2016. – Vol. 44, № 4. – P. 364-370.
168. Thermodynamic Effects of 3 Different Diode Lasers on an Implant-Bone Interface: An Ex-Vivo Study With Review of the Literature / N. Valente A. Calascibetta, G. Patianna, T. Mang. – Текст: непосредственный // J. Oral Implantol. – 2017. – Vol. 43, № 2. – P. 94-99.
169. Tierney, E. Review of fractional photothermolysis: treatment indications and efficacy / E. Tierney, D. Kouba, C. Hanke. – Текст: непосредственный // Dermatol. Surg. – 2009. – Vol. 35. – P. 1445-1461.
170. Urban, I. Vertical ridge augmentation and soft tissue reconstruction of the anterior atrophic maxillae: A case series / I. Urban, A. Monje, H. Wang. – Текст:

- непосредственный // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2015. – Vol. 35. – P. 613-623.
171. Ustaoglu, G. Low-level laser therapy in enhancing wound healing and preserving tissue thickness at free gingival graft donor sites: a randomized, controlled clinical study / G. Ustaoglu, E. Ercan, M. Tunali. – Текст: непосредственный // Photomed. Laser Surg. – 2017. – Vol. 35. – P. 223-230.
 172. Utilization of low-intensity laser during healing of free gingival grafts / A. Almeida, L. Esper, M. Sbrana [et al.]. – Текст: непосредственный // Photomed. Laser Surg. – 2009. – Vol. 27. – P. 561-564.
 173. Veiko, V. The influence of laser micro-and nanostructuring on the wear resistance of Grade-2 titanium surface / V. Veiko. – Текст: непосредственный // Laser Physics. – 2018. – Vol. 28, № 8. – P. 1-7.
 174. Vivan-Cardoso, M. Dental implant macro-design features can impact the dynamics of osteointegration / M. Vivan Cardoso, K. Vandamme, A. Chaudhari. – Текст: непосредственный // Clin. Implant. Dent. Relat. Res. – 2015. – Vol. 4. – P. 639-645.
 175. Von Arx, T. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients / T. Von Arx, D. Buser. – Текст: непосредственный // Clinical oral implants research. – 2006. – Vol. 17, № 4. – P. 359-366.
 176. Wang, X. In vivo study of the healing processes that occur in the jaws of rabbits following perforation by an Er, Cr: YSGG laser / X. Wang, C. Zhang, K. Matsumoto. – Текст: непосредственный // Laser. Med. Sci. – 2005. – Vol. 20, № 1. – P. 21-27.
 177. Wanner, M. Fractional Photothermolysis: Treatment of Facial and Nonfacial Cutaneous Photodamage with a 1,550-nm Erbium-Doped Fiber Laser / M. Wanner, E. Tanzi, T. Alster. – Текст: непосредственный // Dermatol. Surg. – 2007. – Vol. 33. – P. 23-28.

178. Wennstrom, J. Plaque-induced gingival inflammation in the absence of attached gingiva in dogs / J. Wennstrom, J. Lindhe. – Текст: непосредственный // J. Clin. Periodontol. – 1983. – Vol. 10. – P. 266-276.
179. Wennstrom, J. Role of attached gingiva for maintenance of periodontal health. Healing following excisional and grafting procedures in dogs / J. Wennstrom, J. Lindhe. – Текст: непосредственный // J. Clin. Periodontol. – 1983. – Vol. 10. – P. 206-221.
180. Wolf, H.F. Measurement of optical penetration depth and refractive index of human tissue / H.F. Wolf, E.M. Rateitschak, K.H. Rateitschak. – Текст: непосредственный // Periodontol. Chinese Optics Letters. – 2003. – Vol. 1. – P. 44-46.
181. Xie, J. An experiment in which a high-power CO2 laser beam was split into two equalpower beams that were then used as a welding heat source indicated the dualbeam laser could significantly improve weld quality / J. Xie. – Текст: непосредственный // Welding J. – 2002. – P. 223-230.
182. Zwahr, C. Laser surface patterning of titanium for improving the biological performance of dental implants / C. Zwahr. – Текст: непосредственный // Advanced Healthcare Materials. – 2017. – Vol. 6, № 3. – P. 1-9.