

УДК 616.31-089+616.833.154-001+616-092.4:591.4

Шаблій Д.Н., Морозова М.Н., Калиберденко В.Б.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО НЕВРИТА НИЖНЕГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВА КОМБИНИРОВАННЫМИ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

У 36 лабораторных крыс линии Вистар провели сравнительную оценку гисто- и ультраструктурных изменений в нервном волокне, возникающих под влиянием комбинированных нейротропных препаратов «Мильгама» и «Кокарнит» при лечении экспериментального неврита нижнего альвеолярного нерва в сроки 30 и 90 суток.

Ключевые слова: патоморфологические изменения, нижнеальвеолярный нерв, экспериментальная модель, травматический неврит.

Данное исследование является фрагментом плановой научной работы кафедры стоматологии ФПО КГМУ им. С.И. Георгиевского «Современные методы лечения и профилактики стоматологических заболеваний» (номер государственной регистрации 0109U004584).

В настоящее время травматический неврит (ТН) нижнего альвеолярного нерва в амбулаторной стоматологической практике является одним из наиболее частых осложнений, что во многом обусловлено изменившимся характером стоматологической помощи, оказываемой населению [1]. Многие авторы объясняют рост заболеваемости значительно более частым, по сравнению с прошлыми десятилетиями, применением проводниковых анестезий, в том числе, в терапевтической и ортопедической стоматологии [2]. С.А. Рабинович и соавт. (2002), а также D. I. L. Roberts и G. I. I. Sowray (2004) в своих работах показали, что инъекция местного анестетика может вызвать повреждение нерва с последующим образованием спаек из рубцовой ткани в результате разрыва перинервальных или эндонервальных кровеносных сосудов [4]. Коробкеев А.А (2010) [2] доказал, что заболеваемость ТН НАН связана с увеличением числа анестезий с вазоконстрикторными веществами.

Достаточно часто повреждение нижнего альвеолярного нерва происходит во время операции удаления нижних третьих моляров (число удалений по ортодонтическим показаниям из года в год растет) [Ю.И. Бернадский, 1998; А.Р. Андрищев, 2005; J.P. Rood, 1990; A.E. Swanson, 1991; Г.П. Рузин 1997; R. Kubilius et al., 2004 и др.]. В хирургической стоматологии стали больше использовать различные способы расширения и расщепления альвеолярного гребня, компактостеотомию и т.д. [5]. Свой вклад в рост статистики вносит неправильно выполненное эндодонтическое лечение зубов [6], а также перфорация нижнечелюстного канала при постановке зубных имплантатов.

Причин возникновения ТН во всех перечисленных случаях две: механическое сдавление нерва при формировании внутрикостной гематомы или отека в костной ткани и непосредственное повреждение нерва [5,7]. В результате травмы возникают более или менее выраженные воспалительные, дистрофические и рубцовые изменения в нерве и его оболочках.

В последние годы доказано, что чем раньше

начато лечение ТН, тем больше надежды на полное выздоровление пациента [8]. Для уменьшения последствий ранения с целью профилактики тяжелых дистрофических, а затем и рубцовых изменений с первых суток после операции в комплекс лечения современными протоколами рекомендовано включать противовоспалительные препараты (стероидные или нестероидные), что позволяет уменьшить эндо- и периневральный отек [3].

Для восстановления поврежденной структуры и функции нерва предложено большое число средств и способов воздействия. Наиболее рекомендуемыми в источниках специальной информации сегодня считаются комбинированные нейропротекторные препараты «Мильгама» и «Кокарнит» [9]. Их разница состоит в том, что «Кокарнит» содержит комплекс метаболитических веществ и нейропротекторных витаминов, а «Мильгама» - только нейротропные витамины группы В.

Мы проводили сравнительную оценку их действия и описывали морфологические изменения в нервном волокне в срок до 14 суток [3]. В данной работе описаны более поздние морфологические изменения в травмированном нервном волокне, развивающиеся при использовании данных препаратов.

### Цель исследования

Провести сравнительную оценку гисто- и ультраструктурных изменений в нервном волокне, возникающую под влиянием комбинированных нейротропных препаратов «Мильгама» и «Кокарнит» при лечении экспериментального неврита нижнего альвеолярного нерва в сроки 30 и 90 суток.

### Материалы и методы исследования

У 36 лабораторных крыс линии Вистар были созданы две экспериментальные модели травматического неврита нижнеальвеолярного нерва, характерные для стоматологического приема и вызывающие в нем наиболее выраженные воспалительно-реактивные изменения [10]. Под

внутримышечным наркозом обнажали сосудисто-нервный пучок в области ментального отверстия нижней челюсти. Затем в 1-й серии (18 особей) непосредственно в нерв тонкой иглой вводили 0,2 мл раствора Ultracaini forte, во 2-й (18 особей) – на сосудисто-нервный пучок на 30 секунд накладывали кровоостанавливающий зажим. После выполненных манипуляций слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и фиксировали узловыми швами из кетгута. В течение 2-х суток после операции животные обеих серий получали суспензию нимиды по 2 мл per os. С 3-х суток животные контрольной группы (по 6 особей из каждой серии) не получали никакого лечения. Остальные животные (по 6 особей из каждой серии) получали внутримышечно препараты «Кокарнит» или «Мильгама» (по 0,1 мл 10 инъекций на курс). Животных выводили из эксперимента в срок 30 и 90 суток после проведения операции передозировкой внутримышечного наркотика кетаминном, после чего осуществляли забор материала.

С целью получения обзорных микропрепаратов, а также изучения состояния соединительнотканых элементов применяли общепринятые гистологические методы окраски гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон. Материал для электронной микроскопии готовили по общепринятой методике: фиксировали на холоде в 2,5%-ом растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере с pH 7,4 с последующей фиксацией по Millonig 1 % раствором OsO<sub>4</sub>. После обезвоживания в ацетоне кусочки нерва заливали в эпон и помещали в термостат при температуре +60°C на 48 часов для полимеризации смолы. На ультрамикротоме УМТП-7 получали полутонкие срезы, на основании которых производилась прицельная заточка пирамид. Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца по Reynolds, просматривали и фотографировали в трансмиссионном электронном микроскопе ПЭМ-100.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Разработанная методика эксперимента моделирует ситуации, возникающие при проведении проводниковой анестезии и кратковременном проникновении зубного имплантата в нижнечелюстной канал, а также при операции удаления нижних моляров, кист и опухолей, непосредственно прилежащих к нижнему альвеолярному нерву.

Полученные результаты демонстрируют, что формирующийся вследствие экспериментального моделирования травматического неврита комплекс гисто- и ультраструктурных изменений характеризуется выраженным полиморфизмом и вовлекает в процесс все тканевые элементы образующие нервный ствол.

К 30-м суткам после повреждения у контрольной группы 1-й серии опыта отмечались разной степени выраженности глубокие морфо-

гистохимические и ультраструктурные преобразования во всех элементах, составляющих ствол нижнего альвеолярного нерва. В частности, в оболочках нерва наблюдались явления фиброза.

Вследствие интенсивной пролиферации фибробластов, нередко располагавшихся в виде цепочек, и усиленного коллагеногенеза имело место утолщение эндо- и периневрия.

В безмиелиновых нервных волокнах нижнего альвеолярного нерва отмечались расслоение и разрыхление нейрофибрилл, сопровождавшиеся отеком и набуханием митохондрий с очаговыми просветлениями их матрикса, редукцией и дисконплексацией крист.

При использовании препарата «Мильгама» гистоструктурные изменения мало отличались от группы контроля. У животных, получавших «Кокарнит», указанные изменения были менее выражены и отмечались при сохранении общего плана ультраструктурной организации митохондрий.

К 30-м суткам во 2-й серии эксперимента в волокнах обнаруживались признаки жировой дистрофии в виде появления округлых гомогенных средней электронной плотности включений.

Существенные изменения происходили в миелиновых волокнах. В частности, в большинстве из них определялось разрыхление нейрофибрилл и их частичная фрагментация. В самой миелиновой оболочке имело место не только разрыхление миелиновых мембран с образованием обширных и резко выраженных просветлений и полостей, но и их частичная фрагментация (рис.1).

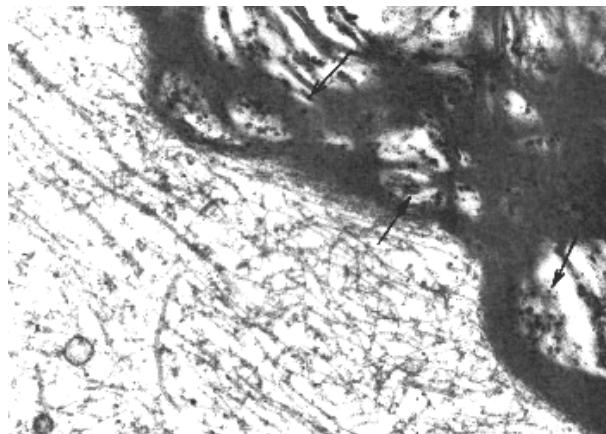


Рис. 1. Разрыхление и просветления (стрелки) с частичной фрагментацией миелиновых волокон. Электронная микрофотография. Ув. x 25000.

Описанные явления могут быть расценены как проявления гидропической дистрофии. Аналогичные изменения имели место в лимфоцитах: при относительно незначительных ультраструктурных преобразованиях в ядре отмечались выраженные изменения в цитоплазме. Появлялись мелко- и крупноочаговые просветления, в том числе в виде вакуолей, что сопровож-

ждалось отеком и набуханием митохондрий с редукцией их крист и резким просветлением матрикса, расширением канальцев цитоплазматической сети, появлением мультивезикулярных образований (рис.2).

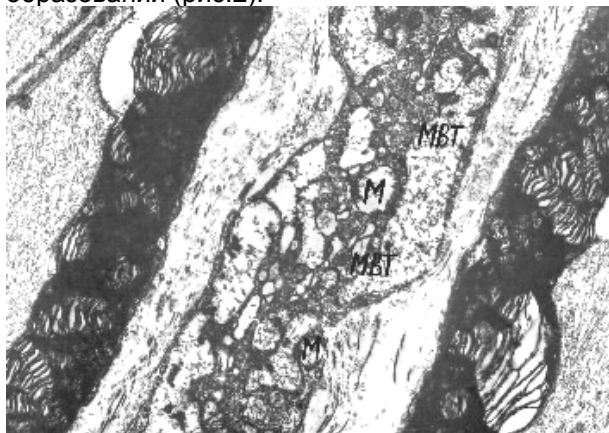


Рис. 2. Леммоцит. М- митохондрия; MBT- мультивезикулярные тельца. Электронная микрофотография. Ув. х 5000.

При использовании препарата «Кокарнит» ультраструктурные изменения достоверно не отличались от результатов, полученных в группе контроля. Применение «Мильгама» способствовало существенному уменьшению проявления гидропической дистрофии на фоне незначительных изменений в ядрах леммоцитов, редко встречались мелкоочаговые изменения в цитоплазме.

Через 90 суток от начала эксперимента в обеих сериях контроля (больше выражены во 2-й) в ультраструктурной организации нерва происходили существенные изменения. В первую очередь это касается миелиновых нервных волокон, в которых имело место дальнейшее нарастание отека с разрыхлением нейрофибрилл, набухание митохондрий с просветлением матрикса, редукцией и дезориентацией крист. Между нейрофибриллами появлялись различные по формам и размерам лакунообразные и вакуолеподобные образования, по-видимому, являющиеся следствием интраневрального отека.

У животных 1-й экспериментальной серии, получавших инъекции «Мильгама», указанные явления преобладали в миелиновых волокнах. В большинстве волокон отмечались процессы разволокнения компактно расположенных высокоосmioфильных миелиновых волокон с образованием округлых островков, в центре которых содержались фрагментированные и частично гомогенизированные миелиновые волокна.

У животных 1-й серии, получавших «Кокарнит», наряду с вышеописанными дистрофическими и деструктивными изменениями в ряде волокон имели место явления компенсаторно-регенераторного характера. Наблюдалось явление ремиелинизации, о чем свидетельствовало появление участков новообразованной миелиновой оболочки (рис. 3).



Рис. 3. Островки новообразованной миелиновой оболочки (стрелки) в подвергшемся демиелинизации нервном волокне. Электронная микрофотография. Ув. х 6000.

В 1-й серии животных, получавших инъекции препарата «Мильгама», к 90-м суткам отмечались морфологические преобразования, свидетельствующие о наличии хронической тканевой гипоксии. В эпи-, пери и эндоневрии практически во всех случаях обнаружены явления фиброза различной степени выраженности, что проявлялось разрастанием аргирофильных и коллагеновых волокон, особенно в периваскулярных отделах. Оболочки - эндо- и периневрия утолщались за счет пролиферации клеток фибробластического ряда и увеличения количества коллагеновых волокон.

Во 2-й экспериментальной серии при лечении «Кокарнитом» были отмечены случаи склерозирования осевого цилиндра в миелиновых нервных волокнах (рис. 4).

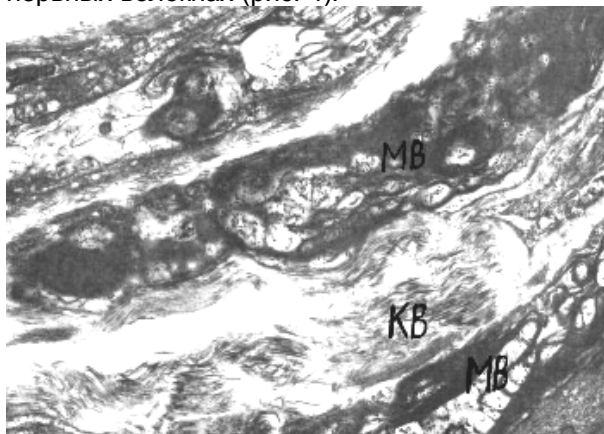


Рис. 4. Разрастание коллагеновых волокон (KB) эндоневрия между миелиновыми (MB) нервными волокнами. MO - миелиновая оболочка. Хронический эксперимент. Электронная микрофотография. Ув. х 6000.

Имел также место факт утолщения эндо- и периневрия вследствие интенсивной пролиферации фибробластов, нередко располагавшихся в виде цепочек и усиленного коллагеногенеза.

При лечении препаратом «Мильгама» во 2-й серии эксперимента, наряду с дистрофическими и деструктивными изменениями, в ряде волокон нами были отмечены участки новообразованной

миелиновой оболочки (ремиелинизации).

Таким образом, отслеживаемые на 30-е и 90-е сутки преобразования в нижнем альвеолярном нерве укладываются в ряд четко очерченных морфологических признаков, включающих патологические изменения сосудов микроциркуляторного русла, оболочек нерва и нервных волокон, что позволяет рассматривать эти сроки, как своеобразный рубеж. Описанные изменения с точки зрения общей патологии частично являются обратимыми, а частично (гидропическая дистрофия) – необратимыми. Применение в раннем послеоперационном периоде перпаратов нейропротекторного ряда позволяет в срок 30 и 90 суток констатировать эффект лечения, хотя и различный в обеих сериях эксперимента.

#### Выводы:

1. Для уменьшения последствий ранения тонкой иглой с последующим введением в сосудисто-нервный пучок раствора Ultracaini forte (анестетика артикаина с вазоконстриктором), с целью лечения и профилактики тяжелых дистрофических, а затем и рубцовых изменений более рационально вводить препарат «Кокарнит».

2. В экспериментальной серии животных с кратковременным сдавливанием сосудисто-нервного пучка в лечении и профилактике тяжелых дистрофических и рубцовых изменений лучший эффект был получен при использовании препарата «Мильгама».

#### Реферат

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ТРАВМАТИЧНОГО НЕВРИТУ НИЖНЬОГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВУ КОМБІНОВАНИМИ НЕЙРОПРОТЕКТОРНИМИ ПРЕПАРАТАМИ У ВІДДАЛЕНІ СТРОКИ.

Шаблій Д.М., Морозова М.Н., Каліберденко В.Б.

Ключові слова: патоморфологічні зміни, нижньоальвеолярний нерв, експериментальна модель, травматичний неврит.

У 36 лабораторних щурів лінії Вістар провели порівняльну оцінку гісто- й ультраструктурних змін у нервовому волокні, що виникають під впливом комбінованих нейротропних препаратів «Мільгама» та «Кокарніт» при лікуванні експериментального невриту нижнього альвеолярного нерву у строк 30 і 90 дб.

#### Summary

EXPERIMENTAL AND MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THERAPEUTIC EFFECTIVENESS PRODUCED BY COMBINED NEUROPROTECTIVE DRUGS IN THE COURSE OF TRAUMATIC NEURITIS OF INFERIOR ALVEOLAR NERVE COMBINED IN REMOTE PERIOD

Shablil D.N., Morozova M.N., Kaliberdenko V.B.

Keywords: pathologic changes, the inferior alveolar nerve, experimental model, traumatic neuritis.

Currently inferior alveolar nerve traumatic neuritis (TN) is the most common complication in the outpatient dental practice, which mainly depends on the considerable changes in the nature of dental care provided for the population. Many authors explain the increased incidence of this condition by much more frequent compared to the previous decades applying of regional anesthesia in the fields of therapeutic and prosthetic dentistry.

Quite often, the inferior alveolar nerve damage occurs during the extraction of the lower third molars (the number of extractions for orthodontic indications is increasing from year to year) [Yu. I. Bernadskiy, 1998, A. R. Andrishchev, 2005; J. P. Rood, 1990; A. E. Swanson, 1991; G. P. Ruzin, 1997; R. Kubiliusetal., 2004, etc.]. Different ways of expanding and splitting the alveolar ridge, compact osteotomy etc. are used in dental surgery more. Incorrectly performed endodontic treatment of teeth and punching the mandibular canal at fitting the dental implants makes its contribution to the growth of statistics.

There are two reasons for TN occurrence in all mentioned cases: mechanical compression of the nerve at the formation of an intraosseous hematoma or edema in the bone and direct nerve damage. As a result of injuries more or less pronounced inflammatory, degenerative and scarring of the nerve and its membranes occur.

To repair damaged structure and functions of the nerve, a large number of means and methods of exposure were suggested. The most recommended in the special sources of information today are considered the combined neuroprotective drugs Milgama and Cocarnit. The difference is that Cocarnit contains the complex

#### Литература

1. Григорьянц Л.А. Лечение травм нижнеальвеолярного нерва, вызванных выведением пломбирочного материала в нижнечелюстной канал / Л. А. Григорьянц, С. В. Сирак // Клиническая стоматология : Науч.-практ. журн. – ООО "ТБИ Компания". – М. : ООО "ТБИ Компания", 2006. – №1. – С. 52-56.
2. Коробкеев А.А. Изучение особенностей анатомо-топографического строения нижней челюсти для планирования эндодонтического и имплантологического лечения / А. А. Коробкеев, С. В. Сирак, И. А. Копылова // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2010. – №1. – С.7-22.
3. Морозова М.Н. Морфологическая оценка эффективности лечения травматического неврита нижнеальвеолярного нерва комбинированными нейротропными препаратами / М.Н. Морозова, В.Б. Калиберденко, Д.Н. Шаблій // ТАВРИЧЕСКИЙ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК. – 2012. – Т.15, №2. – С. 58-66.
4. Рабинович С.А. Современные методы обезболивания на основе артикаинсодержащих препаратов (практическое руководство) / С.А. Рабинович, М.В. Лукьянов, О.Н. Московец, Е.В. Зорян. – М. : ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. – 232 с.
5. Рузін Г.П. Основи технології операцій у хірургічній стоматології та щелепно-лицевій хірургії: навч. посіб / Г.П. Рузін, М.П. Бурих. – [2-е вид., перероб. та доп.]. – Вінниця : Нова книга, 2008. – 375 с.
6. Тимофеев А.А. Клинико-патологические подходы к классификации поражений в системе тройничного нерва / А.А. Тимофеев, Е.П. Весова // Современная стоматология. – 2010. – № 4. – С. 100-101.
7. Тимофеев А.А. Изучение состояния нижнего альвеолярного нерва при повреждениях нижней челюсти в динамике проводимого лечения / А.А. Тимофеев, В. Л. Леснухин // Современная стоматология. – 2009. – №3. – С. 109-115.
8. Anderson L. A review of the intraosseous course of the nerves of the mandible / L. Anderson, T. Kosinski // J. Oral Implantology. – 1991. – №17. – P. 394-403.
9. Schuyler C. H. The function and importance of incisal guidance in oral rehabilitation / C. H. Schuyler // J. Prosthet. Dent. – 2001. – V. 86. – P. 219-232.
10. Scott K. Elevated B 6 levels and peripheral neuropathies / K. Scott, S. Zeris, M.J. Kothari // Electromyogr. Clin. Neurophysiol. – 2008. – №48. – P. 219-223.

of metabolic substances and neuroprotective vitamins, and Milgama - only neurotropic vitamins of group B.

We conducted comparative evaluation of their actions and described the morphological changes in the nerve fiber up to 14 days. In this paper we describe later morphological changes in the injured nerve fibers, developing after the use of these drugs.

**Objective:** To carry out comparative assessment of histological and ultrastructural changes in the nerve fiber arising under the influence of combined neurotropic drugs Milgama and Cocarnit in the treatment of experimental neuritis of the inferior alveolar nerve in terms of 30 days and 90 days.

**Materials and methods:** 36 Wistar rats were subjected to two different modeled types of traumatic neuritis of low alveolar nerve. These models were identical to those injuries which might occur during routine dental procedures and might cause the most pronounced inflammatory and reactive changes. Under intramuscular anesthesia neurovascular bundle was exposed in the area of mental foramen of the mandible. Then, in the 1st series (18 animals) 0.2 mL of Ultracaini forte was injected directly into the nerve with a fine needle, in the 2nd (18 subjects) - hemostatic forceps was applied to the neurovascular bundle for 30 seconds. After these manipulations the muco-periosteal flap was placed back and fixed with interrupted sutures of catgut. Within 2 days after the operation the animals of both series received 2 mL of Nimida suspension orally. Beginning from the day 3 the animals of the control group (6 animals from each of a series) received no treatment. Other animals (6 animals from each series) received preparations Cocarnit and Milgama (0.1 mL for of 10 injections per course). The animals were euthanized on the 30 day and on the 90 day by overdose of intramuscular Ketamine anesthesia, and then the material was collected.

**Results and discussion:** The developed experimental technique simulates the situation arising at holding regional anesthesia and short-term penetration of dental implants in the mandibular canal, as well as at the extraction of the lower molars, cysts and tumors, directly adjacent to the inferior alveolar nerve.

The obtained results show that the emerging as a result of experimental modeling of traumatic neuritis complex of histo- and ultrastructural changes is characterized by a significant polymorphism and involves all tissue elements forming the nerve trunk into the process.

Thus, the monitored on the day 30 and day 90 conversion in inferior alveolar nerve are stacked in a number of well-defined morphological features, including pathological changes in microvascular vessels, membranes of nerves and nerve fibers, which allows us to consider these terms as a kind of milestone. The described changes in terms of general pathology are partly reversible and partly (hydropic degeneration) - irreversible. The application of preparations of neuroprotection series in the early postoperative period allows ascertaining the effect of treatment within the period of day 30 and day 90, although different in the two series of an experiment.

**Conclusions:** 1. Administering of Cocarnit has been proven to be more effective when used to reduce the consequences of injury by a fine needle with further injection of solution Ultracaini forte (Articaine anesthetic with a vasoconstrictor) to the neurovascular bundle as well as for the treatment and prevention of severe degenerative and following cicatrical changes. 2. In the experimental series of animals with short-term compression of the neurovascular bundle in the course of treatment and prevention of severe degenerative changes and cicatrical changes the best effect has been obtained by application of Milgama.