

УДК: 616.314.156-099-08:615.844-07

## ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ НЕЙРОМАРКЕРІВ (NSE, БІЛОК S100), ЯК ДІАГНОСТИЧНИХ МАРКЕРІВ ПОШКОДЖЕННЯ НИЖНЬОГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*Погоріла А.В.\*; Шінкарук-Диковицька  
М.М.\*\**

*\* асистент кафедри  
терапевтичної стоматології Вінницького  
національного медичного університету ім.  
М. І. Пирогова.*

*\*\* проф., д. мед. н., завідувач кафедри  
терапевтичної стоматології Вінницького  
національного медичного університету ім.  
М. І. Пирогова*

**Summary:** One of the most common manipulations is sealing root canals. However, despite the availability of modern diagnostic methods and means for treatment of root canals, there is a complication - the protrusion of a siler for the apex and often in the mandibular canal. As a result, many scientists are improving the methods of diagnosing and treating patients with iatrogenic lesions of the lower alveolar nerve with sealing materials. The decision of the problem can be due to early diagnostic markers of damage to the nerve fiber, by determining in the serum of the neuron-specific enolase (marker of integrity of the myelin sheath) and the titers of the protein S100 (protein of astrocytic glia).

**Key Words:** iatrogenic compression-toxic lesions of the lower alveolar nerve, neuron-specific enolase, protein S 100, resorcinol-formalin, epoxy resin.

В практичній стоматології зустрічається чимало ускладнень пов'язаних з несвоєчасним зверненням пацієнтів для лікування ускладнених форм карієсу та з боку лікарів - нехтуванням правил препарування та проходження кореневих каналів, відсутність або небажання проводити контроль кожного етапу ендодонтичного лікування з залученням для цього апекс локаторів, рентгенологічне дослідження, тощо [4; 9]. Все це відкладає свій відбиток при проведенні стоматологічної допомоги. Крім того, ряд авторів зауважують, що відсоток періодонтитів, які виникають після незадовільного лікування пульпітів, становить 60-70 % випадків [2; 3; 9]. Виведення пломбувального матеріалу за верхівку кореня зуба, особливо при лікуванні каналів нижніх молярів – 37% [1; 3], що може спровокувати неврит, невралгію, ускладнену нейродермітом, нейродеструкцію або нейродегенерацію із послідовними склеротичними змінами в останньому.

Механізм пошкодження нервових волокон пломбувальними матеріалами, згідно попереднім експериментальним дослідженням авторів [5; 7], викликає деструктивно-дегенеративні зміни та порушення мікроциркуляції. Зважаючи на низьку толерантність нервової тканини до впливу ішемічного чинника, рання верифікація наявності, ступеня та величини нейродеструктивних процесів у нижньому альвеолярному нерві дає змогу не тільки обрати тактику терапії, а й спрогнозувати сценарій можливих функціональних порушень [2].

На нашу думку, перерахованим критеріям відповідають деякі нейромаркери, зміна активності і титрів яких, може бути раннім діагностично-прогностичним показником деструктивних процесів у нижньому альвеолярному нерві: нейрон-специфічну енолазу (NSE) та білок S100. NSE – це внутрішньоклітинний фермент центральної та периферичної нервової системи зі слабкою видоспецифічністю, єдиний відомий на

сьогодні загальний маркер всіх диференційованих нейронів. При захворюваннях, пов'язаних із безпосереднім залученням нервової тканини до патологічного процесу, якісні і кількісні визначення цього ензиму в сироватці крові дають інформацію про ступінь та інтенсифікацію ушкодження мембран нейронів та мієлінової оболонки нервів (дендритів і аксонів) [2; 4]. Таким чином, при наявності порушення мембранної цілісності тіл нейронів в сироватці крові буде наростати активність NSE, і це вказує на нейронекротичні (некробіотичні) зміни в периферичній нервовій системі.

Білок S100 - виробляється, і виділяється головним чином гліальними клітинами і клітинами Шванна центральної та периферичної нервової системи [2; 3]. Було встановлено, що він є специфічним біохімічним маркером при травматичних ушкодженнях головного мозку та нервових стовбурів, а поява навіть незначних його титрів, відіграє важливу прогностичну роль. Також, білок S100 – це специфічний білок астроцитарної глії, поділ якої – це закономірна відповідь нервової тканини на некротичні та некробіотичні процеси. Отже, між активністю NSE та титром білка S100 існує прямий кореляційний зв'язок: чим вища активність енолази (а значить: чим більший масив незворотного ушкоджених нейронів або нервових волокон), тим будуть більшими білкові титри, що засвідчує заміщення пошкоджених ділянок астроцитарною глією [8; 10].

Імуноферментне визначення обох маркерів має на меті не тільки сам факт ранньої (починаючи з першої доби) верифікації деструкції нижнього альвеолярного нерва при його ятрогенному компресійно-токсичному ураженні, а переслідуює прогностичну ціль та дає змогу в динаміці контролювати ефективність терапії.

**Мета.** На основі імуноферментного визначення активності NSE та титру білка S100, оцінити можливість її використання як діагностичних маркерів наявності та

інтенсивності перебігу деструктивно-дегенеративних процесів у нижньому альвеолярному нерві при його ятрогенному компресійно-токсичному ураженні на тлі використання пломбувальних матеріалів (на основі резорцин-формаліну та епоксидних смол).

#### **Матеріали та методи**

Роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) імені М. І. Пирогова МОЗ України у рамках тем «Особливості перебігу, лікувально-діагностична тактика та профілактика захворювань твердих тканин зубів, пародонту і слизової оболонки порожнини рота при дії місцевих та загальних факторів (номер держреєстрації 0113U006438)

Експериментальне дослідження проведено на 28 кролях породи Шиншила. Серед них 14 тварин склали контрольну групу, які були абсолютно здоровими, без ушкодження нижнього альвеолярного нерва. Та 14 експериментальних тварин, які були в свою чергу поділені на дві групи в залежності від пломбувального матеріалу, яким було викликане ятрогенне компресійно-токсичне ураження нижнього альвеолярного нерва: 7 тварин з ушкодженням нижнього альвеолярного нерва резорцин-формаліновою пастою, та 7 тварин – епоксидним амінополімером.

В післяопераційний період усім тваринам проводили антибактеріальну терапію, зняття швів проводили на 7 добу експерименту. Забір крові з крайової вени вуха для визначення титрів нейромаркерів (NSE та білка S100), проводили в динаміці на 12 годину, 7-му, 14-ту та 30-ту добу експерименту, а зміни рівня білка S100 реєстрували у період початку зниження активності нейрон-специфічної енолази (14 доба) та в кінці експерименту (30 доба).

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримані методичні рекомендації Державного експертного центру Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України і вимоги біоетики згідно до Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах»

(2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [6; 11].

Дотримуючись Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [Закон України 2006], травматичні маніпуляції виконували в умовах внутрішньовенного (в/в) прополового (40 мг/кг, «Fresenius Kabi», Австрія) наркозу. Дотримання морально-етичних норм при дослідженні засвідчила Комісія з біоетики ВНМУ (протокол № 12 від 10.12.2015р. та протокол № 1 від 31.01.2018 р.).

#### Результати та їх обговорення

Проведене дослідження показало, що активність та титри нейромаркерів (NSE та білка S100) у групі контрольних (здорових) кролів не перевищували 0,282 – 0,29 нг/мл (NSE) та 0,451 – 0,549 нг/мл (S100). Ці величини були взяті, як показники норми при підвищенні яких,

можна вважати початок патологічних змін в нервових структурах.

Після введення пломбувальних матеріалів на основі резорцин-формаліну («Foredent») або епоксидного амінополімеру («АН-Plus») в трепанаційний отвір, що розташований на нижній щелепі в проекції нижнього альвеолярного нерва, який виконано за кістково-пластичною методикою, ініціювало деструктивно-дегенеративні зміни, про що свідчила вірогідне зростання активності NSE. Так, уже через 12 год після моделювання ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва активність нейрон-специфічної енолази в сироватці крові була вірогідно вищою відносно середніх фонових значень у середньому в 21,65 та 11,79 рази відповідно до того, яка суміш використовувалась в якості пломбувального матеріалу – резорцин-формалінова («Foredent») або епоксидна («АН-Plus») (табл. 1).

Таблиця 1

**Динаміка активності нейрон-специфічної енолази в сироватці крові кролів у різні періоди ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва (M±m;n=7)**

Термін спостереження	Рівень активності NSE (нг/мл)	
	Пломбування «Foredent»	Пломбування «АН-Plus»
Контрольна група тварин	0,282±0,0157	0,291±0,009
Початковий рівень до моделювання патології (фонові значення активності)	0,304±0,008	0,337±0,008
12 год	6,584±0,193** <sup>©</sup>	3,973±0,074** <sup>©</sup>
7 доба	9,157±0,167** <sup>©</sup>	5,916±0,177** <sup>©</sup>
14 доба	15,213±0,263**	10,460±0,154** <sup>°</sup>
30 доба	7,943±0,231** <sup>©</sup>	5,894±0,196** <sup>©</sup>

Примітки:

\* –  $p < 0,05$  відносно контрольної групи тварин;

# –  $p < 0,05$  відносно фонових значень;

° –  $p < 0,05$  відносно показників активності на тлі пломбування сумішшю «Foredent» у відповідний період;

© –  $p < 0,05$  відносно показників активності у критичний період.

Величина нейромаркери NSE продовжувала активно наростати протягом год) спостереження в середньому у 2,31 рази («Foredent») та 2,63 рази («АН-Plus»). Максимальне, пікове підвищення активності NSE мало місце на 14 добу ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва, що є критичним періодом у формуванні його деструктивно-дегенеративних змін при даній патології. За використання в якості пломбувального матеріалу суміші на основі резорцин-формаліну, активність енолази підвищилась відносно вихідних значень в середньому у 50,04 рази, а при застосуванні епоксидного амінополімеру відповідно в 31,04 рази, ( $p < 0,05$ ). В наступній динаміці, наприкінці досліду (30 доба), активність NSE почала спадати ( $p < 0,05$ ), про що свідчило вірогідне зменшення її значень відносно попереднього терміну спостереження (14 доба) в середньому в 1,91 рази при пломбуванні резорцин-формаліновим матеріалом («Foredent») та у 1,77 рази при використанні епоксидної суміші («АН-Plus»). В обох дослідних групах, аналізуючи вірогідні зміни ескалації активності NSE, які мали місце при застосуванні еквівалентної кількості «Foredent» або «АН-Plus», можна зробити висновок, що максимальні відмінності

першого тижня і була вищою на 14 добу ( $p < 0,05$ ) порівняно із першим періодом (12 порівняно із початковими (фоновими) значеннями мали місце за використання матеріалу на основі резорцин-формаліну. Отже, при пошкодженні нижнього альвеолярного нерва пломбувальною сумішю на основі резорцин-формаліну ініціює більш інтенсивні, порівняно із епоксидним амінополімером альтераційні процеси в нерві, що, на нашу думку, може бути пов'язано із токсичним впливом його складових.

Встановлено, що після пошкодження нижнього альвеолярного нерва – активується поділ нейроглії, яка являє собою аналог сполучної тканини та утворюється в межах некротизованих нервових волокон. Зниження NSE наприкінці другої неділі ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва (наприклад на 21 та 30 добу), засвідчує кінець активних нейдеструктивних процесів, що відбувається на тлі помірних альтераційних подій. При цьому, пікове зростання білка S100 віддзеркалює активне заміщення нервової тканини нейроглією. Саме тому, моніторинг титру білка S100 ми розпочали після 14 доби, коли активність енолази пішла на спад (табл. 2).

Таблиця 2

**Динаміка титрів білка S100 в сироватці крові кролів у різні періоди ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Примітки:

Термін спостереження	Титр білка S100 (нг/мл)	
	Пломбування «Foredent»	Пломбування «АН-Plus»
Контрольна група тварин	0,549±0,026	0,451±0,027
Початковий рівень до моделювання патології (фонові значення активності)	0,600±0,028	0,626±0,022
14 доба	11,930±0,300	8,88±0,215
30 доба	16,571±0,169	11,860±0,324

\* –  $p < 0,05$  відносно контрольної групи тварин;

# –  $p < 0,05$  відносно фонових значень;

° –  $p < 0,05$  відносно показників активності на тлі пломбування сумішшю «Foredent» у відповідний період.

Як і при попередній порівняльній оцінці двох різних за складом пломбувальних сумішей, передбачуваним стало більш інтенсивне зростання титрів білка S100 на тлі ушкодження нерва резорцин-формаліновою сумішшю «Foredent». На 14 добу експерименту рівень білка S100 зріс відносно початкових значень у середньому в 19,88 рази, а наприкінці досліду (30 доба) – у 27,62 рази,  $p < 0,05$ . Компресія матеріалом на основі епоксидної смоли («АН-Plus»), супроводжувалось менш інтенсивним зростанням білка S100, яка була вірогідно нижчою ніж у попередній групі кролів в середньому відповідно у 14,18 рази (14 доба) та 18,94 рази (30 доба),  $p < 0,05$ .

Таким чином, при надмірному введенні пломбувальних сумішей на основі резорцин-формаліну («Foredent»), або епоксидного амінополімеру («АН-Plus») в трепанаційний отвір, що розташований на нижній щелепі в проекції нижнього альвеолярного нерва, супроводжується розвитком в ньому деструктивно-дегенеративних процесів на що вказує вірогідне підвищення активності нейромаркерів відносно фонового рівня. При цьому, максимальні показники нейрон-специфічної енолази (NSE) мала місце через 14 діб після моделювання ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва, що є критичним періодом у розвитку нейродеструкції та некротичних змін в нервовій тканині. Найбільш інтенсивно ці патологічні зміни відбувались на тлі застосування резорцин-формалінової суміші («Foredent»).

Підвищення титру білка S100 при використанні пломбувальних сумішей на основі резорцин-формаліну або епоксидного амінополімеру мало схожий вектор за направленістю із активністю енолази та відображало процес організації

некротичного вогнища за рахунок активації нейроглії. Обрані нейромаркери доцільно використовувати, як для експрес-діагностики ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва, так і для прогнозу можливих наслідків його ураження.

#### **Висновки:**

1. Модельне ятрогенне компресійно-токсичне ураження нижнього альвеолярного нерва, супроводжувалось максимальною ( $p < 0,05$ ) ескалацією активності NSE відносно фонового (початкового) рівня на 14 добу експерименту (критичний період) в середньому в 50,04 та 31,04 рази, при використанні в якості пломбувального матеріалу відповідно сумішей на основі резорцин-формаліну («Foredent») або епоксидного амінополімеру («АН-Plus»), що вказує на наявність деструктивно-дегенеративних (некробіотичних) змін у волокнах нерва.

2. 14-та доба ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва, характеризувалось активацією нейроглії, на користь чого свідчило вірогідне підвищення відносно вихідного рівня титрів білка S100 (на тлі матеріалу «Foredent» в середньому у 19,88 рази, а на фоні «АН-Plus» у 14,18 рази відповідно), що вказує на інтенсифікацію процесів організації некротичного вогнища та наявну вторинну альтерацію нервових волокон (асептичне запалення).

3. Порівняльна оцінка двох пломбувальних сумішей на основі резорцин-формаліну («Foredent») або епоксидного амінополімеру («АН-Plus») за рівнем підвищення активності NSE та збільшенням титрів білка S100 показала, що резорцин-формаліновий матеріал мав більш потужний ( $p < 0,05$ ) деструктивно-дегенеративний вплив.

4. Імуноферментне визначення в сироватці крові змін активності та титрів нейромаркерів (NSE та білок S100) в динаміці ятрогенного компресійно-токсичного ураження нижнього альвеолярного нерва дозволяє оцінити наявність та глибину деструктивно-дегенеративних змін в його волокнах і може бути використане для експрес-

діагностики, ефективності терапії та можливого прогнозу захворювання.

5. При виведенні пломбувального матеріалу за апекс у нижній альвеолярний нерв, необхідно найшвидше (до 14 доби включно) провести раціональне лікування, для попередження виникнення не зворотніх процесів у нерві.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Авдеева Е. А. Частота встречаемости травматических невритов тройничного нерва в зависимости от этиологических факторов / Е. А. Авдеева, А. И. Печурский // Матер. III съезда челюстно-лицевых хирургов Республики Беларусь. Витебск ВГМУ, 2007. - С. 91 - 93.
2. Арутюнов А. В., Єлізаров А. В., Копилова І. А., Аванесян Р. А. Аналіз факторів, що шкідливу дію на нижній альвеолярний нерв при амбулаторному стоматологічних втручаннях // Сучасні проблеми науки та освіти. - 2013. - № 6
1. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11099>
2. Весова Е. П. Диагностика и лечение больных с неврологическими осложнениями после эндодонтического лечения // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2014.- №2. – С. 73 - 78.
3. Григорьев Е. В., Вавин Г. В., Гришанова Т. Г. [и др.] Нейронспецифические белки – маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме // Медицина неотложных состояний. – 2010. – №2 (27). – С.72-76.
4. Григорьянц Л. А., Бадалян В. А. Удаление инородных тел из нижнечелюстного канала / Новая медицинская технология, М. – 2008. – 10 с.
5. Ляпунов Н. А. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / – К. : МОРИОН, 1999. – С. 508–545.
6. Недзьведь М. К., Походенько-Чудакова И. О., Вилькицкая К. В. Динамика патоморфологических изменений при токсическом поражении нижнего альвеолярного нерва в условиях эксперимента.-Журнал « Стоматолог» Минск. -2012. - №1(4). - С. 25 - 28.
7. Пискунов А. К. Биомаркеры нейровоспаления // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 1. – С. 63-73.
8. Тимофеев О. О., Весова О. П. Ураження трійчастого нерва при не пухлинних захворюваннях щелепно-лицевої ділянки // Современная стоматология. – 2014. -№ 4. – С. 84-91.
9. Ходаківський О. А. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження) : автореф. дис. д. мед. н. : спец. 14.03.05 – фармакологія / – Одеса., 2014.
10. Simone F. Biotechnology, animal health and animal welfare within the framework of European Union legislation / F. Simone; J. Serratos // Rev. Sci. Tech. Oie. – 2005. – Vol. 24, №.1 – P. 89–99.