

УДК 616:314+616-092.9

© М.Н. Морозова, Д.Н. Шаблий, В.Б. Калиберденко, 2013.

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕРВНОМ ВОЛОКНЕ, ИЗУЧЕННЫЕ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОЙ ТРАВМЫ НИЖНЕГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВА

**М.Н. Морозова, Д.Н. Шаблий, В.Б. Калиберденко**

*Кафедра стоматологии ФПО (зав. кафедрой – проф. И.Г. Романенко), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.*

### ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE NERVE FIBERS STUDIED ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE TRAUMA OF INFERIOR ALVEOLAR NERVE

**M.N. Morozova, D.N. Shabliy, V.B. Kaliberdenko**

#### SUMMARY

We propose a method of forming models of traumatic neuritis in an experimental model of acute trauma of the inferior alveolar nerve. We analyzed the ultrastructural changes in the nerve fiber on the third, tenth, and thirtieth day. On the third day after the injury, we observed a violation of the intrastem hemomicrocirculation caused by increased vascular permeability. By the 10<sup>th</sup> day of the experiment, in the perineural tissue and the nerve fiber itself, degenerative and inflammatory processes dominated. On the 30<sup>th</sup> day after the injury of the neurovascular bundle of the inferior alveolar nerve, degenerative and inflammatory phenomena in the nerve fiber gave place to degenerative and sclerotic processes.

### УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НЕРВОВИХ ВОЛОКНАХ, ВИВЧЕНІ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ГОСТРОЇ ТРАВМИ НИЖНЬОГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВА

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

#### РЕЗЮМЕ

Запропоновано методику формування моделей травматичного невриту на експериментальній моделі гострої травми нижнього альвеолярного нерва. Проаналізовано ультраструктурні зміни в нервовому волокні на 3-ю, 10-у і 30-у добу. На 3-ю добу після нанесення травми відзначається порушення внутрішньої гемомікроциркуляції внаслідок підвищеної проникності судинної стінки. До 10-ї доби експерименту, в периневральних тканинах і самому нервовому волокні переважають дегенеративно-запальні процеси. На 30-у добу після травми судинно-нервового пучка нижнього альвеолярного нерва, дегенеративно-запальні явища в нервовому волокні змінюються дегенеративними і склеротичними процесами.

**Ключевые слова:** ультраструктурные изменения в нервном волокне, экспериментальная модель, травматический неврит, нижний альвеолярный нерв.

Травматический неврит (ТН) нижнего альвеолярного нерва в амбулаторной стоматологической практике является одним из наиболее частых осложнений, возникающих при несоблюдении техники проведения проводниковых анестезий, эндодонтического лечения моляров и премоляров нижней челюсти, постановке зубных имплантатов, удалении третьих нижних моляров (особенно, по поводу ретенции и дистопии). Вопросы повреждения и регенерации нервной ткани и патоморфологических изменений в нервном волокне в процессе лечения многократно дискутировались в научных публикациях (Д.А. Ноздрачев, Е.И. Чумаков, 1999; А.А. Тимофеев, Весова, 2006; Я.Ю. Попелянский, 2005; С.С. Едранов, 2008 и др.). При этом большая часть работ описывает морфологические изменения, возникающие при полном пересечении нерва.

Значительно меньше исследований посвящено травмам, сопровождающимся кратковременным незначительным повреждением нижнего альвеолярного нерва, хотя именно такие повреждения наиболее

характерны для амбулаторного приема у врача-стоматолога. Мы разработали методику формирования моделей ТН, наиболее характерных для стоматологического приема. Обнаружили, что наиболее выраженные воспалительные, а затем дистрофические морфологические изменения в нерве и параневральных тканях развиваются у животных, перенесших травму от кратковременного сдавливания сосудисто-нервного пучка. Однако осталось не выяснено: к каким именно ультраструктурным изменениям приводит подобная травма и каковы сроки появления этих изменений. Данные об этом позволят разработать способы патогенетически направленного терапевтического пособия для профилактики и лечения травматического неврита.

Целью работы явилось изучение ультраструктурных изменений в волокне нижнего альвеолярного нерва в ранние сроки после повреждения на экспериментальной модели его травмы, обусловленной кратковременным сдавливанием сосудисто-нервного пучка.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

У 9 лабораторных крыс линии Вистар под внутримышечным наркозом рассекали слизистую оболочку и надкостницу в преддверии рта, проводили препарирование сосудисто-нервного пучка нижнего альвеолярного нерва, затем на последний накладывали на 30 секунд кровоостанавливающий зажим. После выполненных процедур слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и фиксировали узловыми швами из кетгута. В послеоперационном периоде в течение 2-х суток животные получали внутрь суспензию нимесил по 2 мл 2 раза в день. В сроки 1, 3, 10 и 30 суток их выводили из эксперимента.

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 Millohing однопроцентным раствором OsO<sub>4</sub>. После обезживания 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 И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Разработанная методика эксперимента моделирует ситуации, возникающие при кратковременном проникновении зубного имплантата в нижнечелюстной канал, операции удаления нижних моляров (в том числе, ретенированных и дистопированных третьих моляров), непосредственно прилежащих к нижнему альвеолярному нерву.

При наблюдении за животными этой серии в 1-е сутки после операции возникали отёк и гиперемия мягких тканей вокруг операционной раны, которые распространялись на соседние области. Животные были вялые, плохо принимали корм. К 3-м суткам отёк тканей несколько уменьшался, сохранялась гиперемия и появлялась незначительная инфильтрация краев раны. Пальпация тканей в области раны вызывала бурную двигательную реакцию животных. К 10-м и 30-м суткам на слизистой оболочке преддверия рта определялся сформировавшийся плотный белесоватый рубец, несколько возвышающийся над окружающими тканями. Пальпация тканей в области рубца у животных вызывала умеренную двигательную реакцию.

Через 24 часа после операции при микроскопическом исследовании в краях раны обнаружены яв-

ления отёка, серозно-фибринозного пропитывания тканевых структур, очаги некробиоза и кровоизлияний с дезорганизацией железистых структур, признаки вакуольной и зернисто-капельной дистрофии с гиперхромией и кариопикнозом ядер. При электронно-микроскопическом исследовании в участках выраженных микроциркуляторных расстройств выявлялись морфофункциональные признаки нарушения транскапиллярного обмена с дезорганизацией внутриклеточных органелл эндотелиоцитов, базальной мембраны, перицитов. Встречались участки отслоения цитоллемы эндотелиоцитов от базальной мембраны, в их цитоплазме – микропиноцитозные пузырьки, многочисленные пальцевые выросты в просвет капилляра. В ядрах перицитов – краевое стояние хроматина, инвагинации кариолеммы. Нерв состоял из отдельных волокон и был окружён эндоневрием. Миелиновая оболочка утратила чёткость наружных контуров.

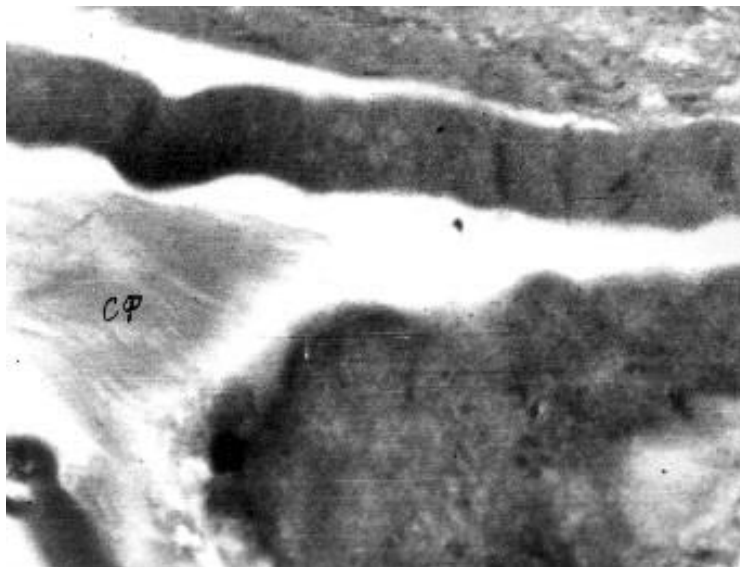
К 3-м суткам в препаратах выявлено развитие воспалительно-реактивных изменений и циркуляторных расстройств непосредственно в нерве и окружающих его тканях. В дистальном отрезке от места повреждения отмечалось полнокровие сосудов оболочек нерва. Сосуды были паралитически расширены и переполнены кровью, в них отмечались явления стаза, гемагглютинации. Основные изменения, обнаруживаемые при электронно-микроскопическом исследовании, затрагивают преимущественно миелиновую оболочку нерва и, в значительно меньшей степени, вещество нервных стволов. В первую очередь следует отметить, что миелиновые нервные волокна на ультратонких срезах в подавляющем большинстве имеют округлую или (в зависимости от среза) овальную форму. В целом нерв сохраняет свое строение и состоит из отдельных нервных волокон, окружённых волокнистым соединительно-тканым эндоневрием и соединительнотканной периневральной оболочкой.

Со стороны эндоневрия отмечаются явления отёка, выражающиеся в некотором разобщении отдельных нервных волокон, сопровождающиеся очаговым разрыхлением соединительно-тканых фибрилл с их фрагментацией (рис. 1) и потерей чёткости наружных контуров миелиновой оболочки нерва.

В большинстве полей зрения миелиновая оболочка нерва выглядит резко осмиофильной, гомогенной, высокой электронно-оптической плотности и имеет более или менее чёткие очертания. При больших увеличениях удается определить, что структурно она состоит из упорядоченных, плотно упакованных, расположенных параллельно фибриллярных структур, между которыми лишь кое-где определяются незначительные просветы и просветления, появление которых, по-видимому, является результатом нарушения их пространственной организации в процессе технической обработки материала. Ми-

елиновая оболочка нерва окружена периневральными клетками, имеющими вытянутое ядро с четко

контуриванной ядерной мембраной и равномерно распределённым по кариоплазме эухроматином.

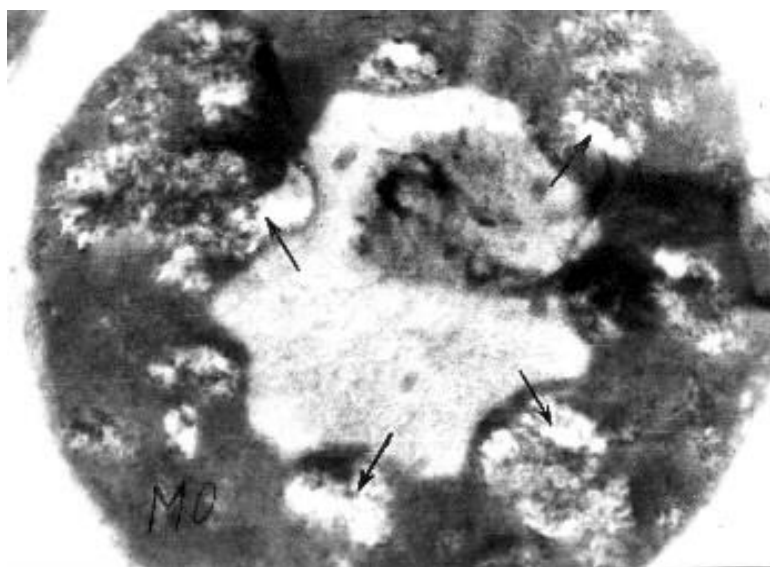


**Рис.1.** Явления отёка, выражающиеся в некотором разобщении отдельных нервных волокон, разрыхлением соединительнотканых фибрилл (СФ) с их фрагментацией. Электронная микрофотография. Ув. х 3000.

В зоне периваскулярного отёка (в участке непосредственного наложения зажима) наряду с дистрофическими изменениями в эндотелиальных клетках в виде гомогенизации цитоплазмы, гиперхромии ядер, неправильной их формы с глубокими перетяжками, отмечались изменения в перицитах. Цитоплазма последних гомогенизирована, ядра просветленные, имеют место признаки разрушения кариолеммы, неравномерное распределение хроматина.

К 10-м суткам в тканях, окружающих нижний альвеолярный нерв, заметно уменьшались явления

отёка и циркуляторных расстройств, хотя и в этот срок сохранялись участки с явлениями отёка, стаза и диапедеза. В окружающих тканях появляется зрелая волокнистая соединительная ткань с преобладанием зрелых форм клеточных элементов типа фибробластов и фиброцитов. При электронно-микроскопическом изучении препаратов этого срока оказалось, что практически повсеместно встречаются нервные волокна округлой формы, в миелиновой оболочке которых ясно видны очаговые просветления (рис. 2).



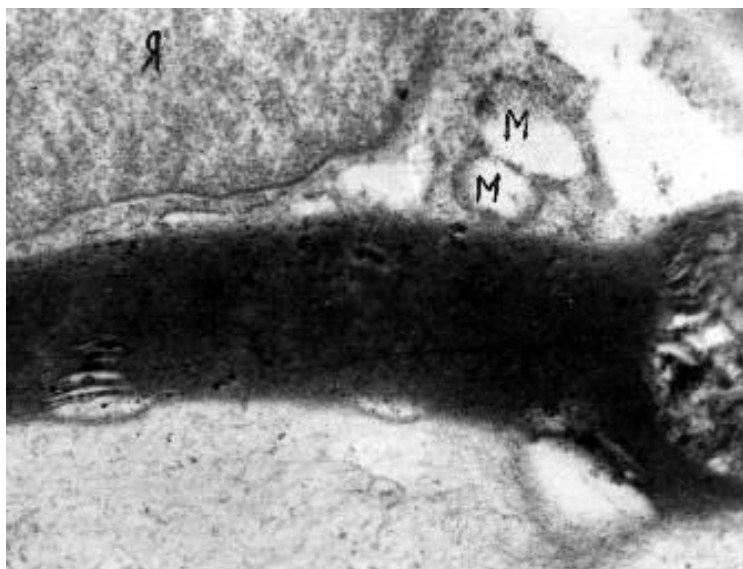
**Рис. 2.** Нервные волокна округлой формы, в миелиновой оболочке которых видны очаговые просветления (стрелки). Электронная микрофотография. Ув. х 50000.

Последние имеют округлую или неправильную форму и располагаются то в толще миелиновой оболочки, ближе к её внутреннему или, наоборот, внешнему краю. При этом в области таких просветлений внешняя граница миелиновой оболочки теряет чёткость своих контуров, а сама оболочка становится высокоосмиофильной, гомогенной. Внутри обнаруживаемых просветлений удается определить разобщённый, разрыхленный, фрагментированный фибриллярный материал, что позволяет сделать заключение не только об очаговом отеке миелиновой оболочки, но и о нарушении её целостного строения. В отдельных случаях просветления, располагаясь в непосредственной близости от внутренней границы миелиновой оболочки, сопровождались зоной отёка, вдающейся внутрь нервного ствола в виде лакуны.

Со стороны основного вещества нервного ствола, как правило, отмечаются лишь явления слабо-выраженного отёка в виде разрыхления и некоторого разволокнения волокнистых структур без каких-либо резко выраженных очаговых изменений. Отмечалось также активное образование коллагеновых волокон в параневральных тканях. Так, видны собранные в компактные пучки коллагеновые волокна с характерной поперечной исчерченностью. Среди коллагеновых волокон виден фибробласт, по морфологическим признакам соответствующий коллагенобласту II типа. Цитоплазма его почти полностью занята расширенными цистернами цитоплазматической сети, заполненными рыхлым хлопьевидным веществом. Ядро гиперхромное, неправильной

формы. Что касается циркуляторных расстройств, выраженных в предыдущий срок, на 10-е сутки сохраняются явления повышенной проницаемости сосудистой стенки с периваскулярным отёком, наблюдается расширение и полнокровие сосудов мелкого калибра, имеют место нарушения транскапиллярного транспорта с образованием большого количества микропиноцитозных везикул.

К 30-м суткам после повреждения вокруг нерва определяется плотный рубец. Структура представлена грубыми, ортохроматично окрашиваемыми коллагеновыми волокнами, между которыми встречались единичные фибробласты и фиброциты. В отделах, по-видимому, близких или подвергшихся непосредственной травме зажимом, встречались очаги незавершённости фибрилlogenеза, рыхлые полиморфноклеточные инфильтраты, полнокровие посткапиллярных сосудов и периваскулярный отёк. Отмечались очаги юной грануляционной ткани, окруженные зоной воспалительной инфильтрации и продуктивной реакции с интенсивным фибрилlogenезом; эти очаги расширяли зону рубцово-трансформативных изменений в тканях, окружавших нерв. При электронно-микроскопическом исследовании в этот срок в цитоплазме клеток, имеющей различную электронную плотность, были видны различные по размерам и форме вакуоли, и происходило разрыхление цитоплазматической мембраны, что сопровождалось, в первую очередь, набуханием митохондрий с просветлением их матрикса, редукцией, дезорганизацией и фрагментацией крист (Рис. 3).



**Рис. 3. Набухание митохондрий (М) с деструкцией их крист в леммоците. (Я) – ядро. Электронная микрофотография. Ув. x 10000.**

Обращали на себя внимание очаговые разволокнения плотно упакованных фибрилл миелиновой оболочки с появлением просветлений различных размеров. Появлялись направленные к центру кону-

сообразные выпячивания, представлявшие собой отслоение отёчной жидкостью одной или нескольких миелиновых фибрилл. Иногда в одном поле зрения удавалось обнаружить несколько таких выпячи-

ваний со стороны миелиновой оболочки. Осевого цилиндр оказывался оттеснённым от миелиновой оболочки. В ряде случаев внутренняя мембрана теряла свою целостность и тогда внутри лакун обнаруживались разволокнённые и частично фрагментированные осмиофильные фибриллярные структуры.

Во многих участках отёчная жидкость из-за разрыва отшнурованных осмиофильных миелиновых мембран проникала внутрь осевого цилиндра, что сопровождалось разрыхлением нейрофиламентов, нарушением их целостности и появлением электронно-оптически прозрачных участков неправильной формы с размытыми границами.

Этот срок характеризуется почти полной нормализацией циркуляторных расстройств в окружающих тканях. Лишь в некоторых участках (по-видимому, непосредственно подвергшихся сдавливанию зажимом) в посткапиллярных сосудах продолжают иметь место полнокровие, стаз, имеются признаки отёка и дезорганизации коллагеновых волокон. Среди клеточных элементов встречались плазматические клетки с признаками высокой функциональной активности, о чем свидетельствовало состояние внутриклеточных органелл, в частности, развитой шероховатый эндоплазматический ретикулум.

Таким образом, кратковременное 30-секундное воздействие сдавливанием сосудисто-нервного пучка, включающего нижний альвеолярный нерв у животных, в отсутствие терапевтического пособия, приводит к значительным ультраструктурным изменениям в нерве и периневральных тканях: выраженным дегенеративно-воспалительным процессам, проявляющим себя нарушением нормальной структуры функционально значимых структурных элементов, сменяющимися к 30-м суткам дегенеративными и склеротическими явлениями.

#### ВЫВОДЫ

1. На 3-и сутки после нанесения травмы в тканях нижнего альвеолярного нерва отмечается нарушение внутриволоковой гемомикроциркуляции

вследствие повышенной проницаемости сосудистой стенки, её плазматического пропитывания и периваскулярного отёка, обуславливающих циркуляторную гипоксию. При этом, реактивные изменения, наблюдаемые в нервных волокнах, по всей видимости, являются частично обратимыми, представляя собой реакцию на возникшую острую циркуляторную гипоксию и непосредственную механическую альтерацию.

2. К 10-м суткам эксперимента, в периневральных тканях и самом нервном волокне преобладают дегенеративно-воспалительные процессы, проявляющие себя нарушением нормальной структуры большинства функционально значимых структурных элементов.

3. К 30-м суткам после рассечения тканей и сдавливания сосудисто-нервного пучка нижнего альвеолярного нерва, дегенеративно-воспалительные явления в нервном волокне сменяются дегенеративными и склеротическими процессами, а в окружающих тканях – развитием грубых рубцовых изменений с очагами незавершенности фибриллогенеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ноздрачёв Д.А., Чумаков Е.И. Периферическая нервная система. Структура, развитие, трансплантация и регенерация. – СПб., 1999. – 281 с.

2. Тимофеев А.А. Классификация вторичных неврогенных поражений периферических ветвей тройничного нерва / А.А. Тимофеев, Е. П. Весова, Е.В. Горобец // Современная стоматология. – 2005. – № 1. – С. 104-106.

3. Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы: руководство для врачей / Я.Ю. Попелянский. – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 368 с.

4. Едранов С.С. Распространённость травматических повреждений костей средней зоны лица по данным ККБ№2 г. Владивостока / С.С. Едранов, К.И. Крюков, А.А. Коновко // Некоторые вопросы научной и практической медицины. Владивосток, 2005. – С.30-32.