

Киртаева А.В.

## Исследование содержания гистамина в тканях десны крыс на фоне алкогольной интоксикации

ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова, Чебоксары

Kirtaeva A.V.

### Study of histamine contents in the structure of gingiva under the conditions of the alcoholic intoxication

#### Резюме

В статье представлено содержание гистамина в структурах десны у интактных крыс, в условиях алкогольной интоксикации и с применением лекарственных препаратов. Увеличение срока алкоголизации до 3 месяцев приводит к значительному возрастанию концентрации гистамина в эпителиальном слое слизистой оболочки (увеличение в 6 раз). Местное применение лекарственных препаратов, содержащих холин салицилат, цеталконий хлорид, достоверно снижает уровень гистамина в тучных клетках и, как результат, уменьшает до минимума клинические признаки воспаления в десне.

**Ключевые слова:** десна, биоамины, гистамин, алкоголь

#### Summary

In article is present the contents of a histamine in structure of a gingiva at intact rats, in the conditions of the alcoholic intoxication and with use drugs. Increase in period of alcoholization up to 3 months leads to considerable increase of concentration of a histamine in an epite layer to a mucous membrane (increase up to 6 times). Local use of drugs reliable decrease in level of a histamine in mast cells and as results, reduces to a minimum clinical signs of inflammation in a gingiva.

**Key words:** gingiva, biogenic amines, histamine, alcohol

#### Введение

Хроническое поступление алкоголя в организм, продолжительный контакт со слизистыми оболочками полости рта, ухудшение оральной гигиены создают благоприятный фон для развития воспалительных заболеваний тканей пародонта [2]. В настоящее время исследователями выявлен аутоиммунный компонент в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта, т.е. патология протекает по типу гиперчувствительности замедленного типа, что способствует хроническому воспалительному процессу [3,5]. На микроскопическом уровне, в эпителии и собственной пластинке десен происходят деструктивные изменения. Повреждение эпителия вызывают токсины микроорганизмов и продукты их обмена, за счет чего снижается барьерная функция здоровой ткани. Морфологически это выражается в отеке и десквамации эпителия. Одним из патогенетических звеньев в развитии воспалительных заболеваний пародонта также являются гемодинамические расстройства, приводящие к ухудшению трофики тканей десны [1,4,6]. Установлено, что проницаемость сосудистой стенки тканей пародонта максимально выражена при абстинентном синдроме, что обусловлено вегетативным дисбалансом и накоплением микробного налета на поверхности зубов [2].

*Цель исследования* — изучить ранние клинико-морфологические изменения в тканях десны при алкогольной интоксикации.

#### Материалы и методы

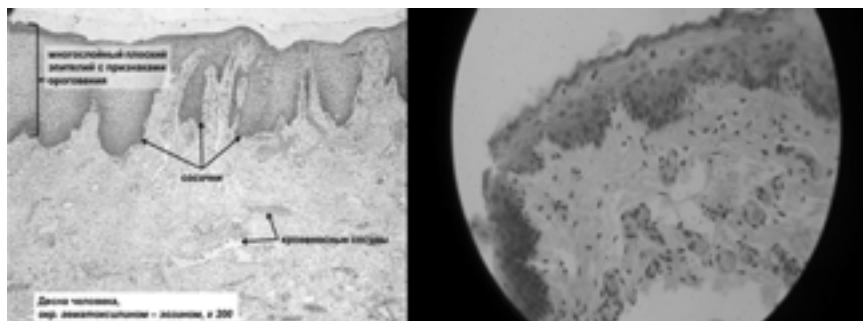
Исследованы 3 группы беспородных крыс, по 10 в каждой группе (n=30). Все крысы были одинакового возраста и массы (190-210 гр), находились в равных условиях содержания и питания. Первая группа исследования в питьевом режиме получала 20% раствор этанола, как единственный источник воды. Второй группе на фоне приема 20% раствор этанола проводилось лечение тканей пародонта (препаратом, содержащим основные вещества: холин салицилат, цеталконий хлорид и вспомогательные: гиэтеллоза, метилпарагидроксибензоат, пропилпарагидроксибензоат, глицерол, масло семян аниса обыкновенного, этанол, вода). Третья группа была контрольная (получала воду). Результат оценивался через 20 дней, 1 месяц, 2 и 3 месяца. При этом руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». По истечении опыта, животные выводились из эксперимента согласно рекомендациям ВОЗ.



**Рис. 1. Визуальный осмотр десны у крыс 1 группы исследования (спустя 3 месяца)**

Для исследования изымался участок десны и исследованы следующие структуры межзубного десневого сосочка: многослойный плоский ороговевающий эпителий, собственная пластинка, состоящая из сосочкового и сетчатого слоев. Забор десневого сосочка осуществлялся на нижней челюсти между центральными резцами. Часть препаратов фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина с заливкой в парафин, затем готовили срезы толщиной 3-5 мкм с последующей окраской гематоксилином-эозином. Другую часть замораживали и фиксировали в криостате ( $t=-20^{\circ}\text{C}$ ), люминесцентно-гистохимическим методом Кросса-Эвена-Роста в тучных клетках определяли содержание гистамина (толщина среза 15-20 мкм) [7]. Количественное содержание оценивалось с помощью цитоспектрофлуориметрии на люминесцентном микроскопе ЛЮАМ-4 с фотометрической насадкой ФМЭЛ-1А. Для оценки интенсивности свечения гистамина использовали светофильтр №7 (длина волны 515нм). Количество измерений интенсивности - не менее 20 в каждом срезе. Результаты фиксировали в условных единицах люминисценции (усл. ед.) с помощью цифрового мультимера.

Все полученные данные были статистически обработаны: достоверность различий при сравнении величин определялась с помощью критерия Стьюдента, при нормальном распределении, при ином распределении с использованием критерия Манна — Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.



**Рис. 2. Микроскопический срез десневого сосочка крысы в норме (слева) и у 1 группы (справа), окраска гематоксилином-эозином**

## Результаты и обсуждение

Исследования показали, что у животных первой группы с алкогольной интоксикацией сроком 2-3 недели при визуальном осмотре десны выявлялся признак воспаления - гиперемия. Спустя 1 месяц визуальные признаки воспаления усилились на фоне повышенного содержания гистамина. Через 3 месяца выраженная воспалительная реакция десны характеризовалась кровоточивостью при малейшем прикосновении (рис. 1).

Во второй группе животных на всех сроках исследования при визуальном осмотре признаки воспаления минимальны. В контрольной группе визуальных признаков воспаления не отмечалось.

При микроскопическом исследовании (окраска гематоксилин-эозин) отмечается, что у крыс с интактным пародонтом собственная пластинка слизистой оболочки имеет нечетко выраженный сосочковый и сетчатый слой по сравнению с пациентами,отягощенными пародонтизом алкогольной этиологии: увеличивается площадь контактов между эпителием и подлежащей соединительной тканью, количество и высота соединительнотканых сосочков (рис. 2 слева). Микрососуды сосочкового и сетчатого слоев в первой группе исследования расширены, эндотелий отечный, ядра эпителиоцитов и фибробластов гиперхромны (рис. 2 справа).

При изучении уровня гистамина в многослойном плоском ороговеющем эпителии до исследования и спустя 20 дней изучения, данный показатель не изменился. Достоверная разница в первой и второй группах исследования по сравнению с контрольной наблюдается спустя месяц наблюдений ( $p<0,001$ ), увеличение в 4 раза. Спустя 2 месяца, на фоне местного применения лекарственного препарата, во второй группе отмечается значительное снижение уровня гистамина с  $1,35\pm 0,1$  усл. ед. до  $0,6\pm 0,01$  усл. ед., тогда как в первой группе (без лечения) с 1 по 3 месяц исследования вырос еще в 1,5 раза — до  $1,86\pm 0,003$  усл. ед. (табл. 1).

Исходный уровень гистамина в сосочковом слое собственной пластинке слизистой оболочки во всех группах также существенно не отличался и варьировал на уровне  $0,47\pm 0,01$  усл. ед. —  $0,52\pm 0,02$  усл. ед. При сравнении групп установлено, что у крыс 1 группы со временем отмечается достоверное увеличение уровня гистамина в тучных клетках: в 20 дней  $0,68\pm 0,06$  усл. ед., спустя 2 месяца данный показатель составил уже  $1,29\pm 0,26$  усл.

Таблица 1. Уровень гистамина в многослойном плоском ороговевающем эпителии в группах исследования спустя 20 дней, 1, 2 и 3 месяца исследования, в усл. ед.

	До исследования	20 дней	1 мес	2 мес	3 мес
1 группа	0,28±0,02	0,25±0,01	1,11±0,22	1,62±0,04	1,86±0,003
2 группа	0,30±0,02	0,25±0,005	1,35±0,1	0,6±0,01	0,67±0,16
3 группа	0,37±0,02	0,42±0,056	0,27±0,039	0,27±0,04	0,42±0,15

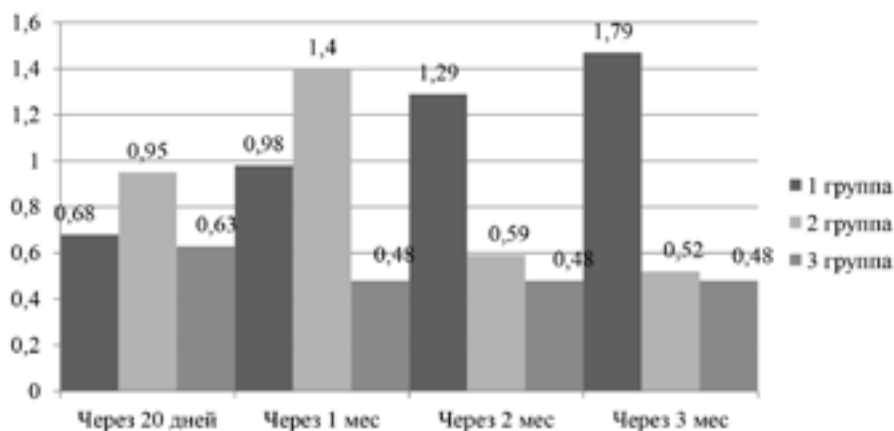


Рис. 3. Уровень гистамина в сосочковом слое собственной пластинки слизистой оболочки спустя 20 дней, 1, 2 и 3 месяца в группах исследования (в усл.ед.)

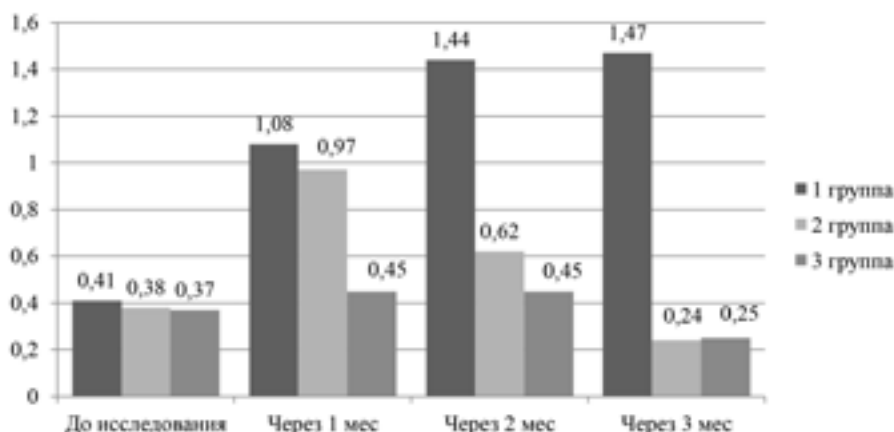


Рис. 4. Уровень гистамина в сетчатом слое собственной пластинки слизистой оболочки до исследования, спустя 1, 2 и 3 месяца в группах изучения (в усл. ед.)

ед. (увеличение в 2 раза), достигая максимума в 3 месяца — 1,79±0,005 усл.ед. (p<0,05), что говорит о яркой воспалительной реакции в десне. Во второй группе в течение первого месяца также наблюдается незначительное увеличение уровня гистамина, с 0,95±0,01 усл.ед. до 1,4±0,12 усл.ед., однако на фоне применения лекарственного препарата, данный показатель выравнивается до уровня контрольной группы (0,52±0,15 усл.ед. и 0,48±0,19 усл.ед. соответственно), рис. 3.

Аналогичная ситуация прослеживается и в сетчатом слое собственной пластинки слизистой оболочки: содержание биоаминов в тканях десны при пародонтите алкогольной этиологии достоверно выше, чем у пациентов с интактным пародонтом. В первой группе уровень гистамина до исследования составлял 0,61±0,04 усл.ед. спустя месяц — 1,08±0,09 усл.ед., 2 месяца — 1,44±0,1 усл.ед.,

в 3 месяца данный показатель равнялся 1,47±0,12 усл.ед. (увеличение в 2 раза), p<0,001 (рис. 4).

Во второй группе уровень гистамина до исследования составлял 0,38±0,04 усл. ед. спустя месяц — 0,97±0,22 усл. ед., 2 месяца — 0,62±0,05 усл. ед., через 3 месяца исследования количество гистамина соответствовало контрольной группе (0,24±0,13 усл. ед. и 0,25±0,006 усл. ед. соответственно), что говорит об эффективности применяемого лечения.

Таким образом, увеличение срока алкоголизации до 3 месяцев приводит к более значительному возрастанию концентрации гистамина в тучных клетках слизистой оболочки десны (1 группа исследования) по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных (контрольная группа). При этом наиболее показательным является многослойный плоский ороговевающий эпителий.

Снижению уровня гистамина во второй группе спустя 2 месяца эксперимента способствует местное применение препаратов, содержащих холин салицилат, цеталконий хлорид.

### Заключение

Хроническая алкогольная интоксикация протекающая с хроническим генерализованным пародонтитом приводит к изменению цитоархитектоники и кровоснабжению десны. Причем в тучных клетках эпителиального слоя содержание биоаминов является максимальным (увеличение в 6 раз) по сравнению с нижележащими слоями: сосочковым и сетчатым слоях собственной пластинки слизистой оболочки (в 3 раза в каждом). Необходимо отметить, что местное применение лекарственных

препаратов, содержащих холин салицилат, цеталконий хлорид, способствует снижению уровня гистамина в тучных клетках и, как результат, уменьшает до минимума клинические признаки воспаления в десне. Полученные сведения могут быть использованы для обоснования назначения антигистаминных и противовоспалительных препаратов в комплексном лечении пациентов с патологией пародонта алкогольной этиологии. ■

*Киртаева Анастасия Владиславовна (Kirtaeva Anastasiya Vladislavovna) — ассистент кафедры орпнедической стоматологии и ортодонтии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», 428000 г. Чебоксары, Московский проспект д.15, тел: 8(927)852-97-11, email: iveti01062@mail.ru*

---

---

### Литература:

1. Безрукова А.Л., Пародонтология. М.: Стоматологический научный центр; 1999.
2. Горячев Д.Н., Мухамеджанова Л.Р., Баязитова Л.Т. Микробиология биотопов полости рта наркозависимых пациентов // Клиническая стоматология. 2011; 2:88-91.
3. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. Руководство для врачей. М.: Медицина; 1995.
4. Сперанская Е.М., Мухамеджанова Л.Р., Голубцова Н.Н., Никитина Л.И. Патогенетическое обоснование использования нестероидных противовоспалительных препаратов в комплексном лечении пациентов с генерализованным пародонтитом. Acta Medica Eurasica. 2016.; 1: 29-35
5. Тарасенко Л.М. Патогенез повреждения пародонта при стрессе. автореф. дис.. д.м.н. М.; 1985.
6. Яковлева Л.М., Николаева Н.В. Содержание гистамина в структурах кишечника в условиях алкогольной интоксикации. Вестник Чувашского государственного университета. 2010.; 2:177-180.
7. Cross S.A., Ewen S.W., Rost F.V. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with ophtaldehyde or acetaldehyde. J Histochem. Cytochem. 1971; 3(6):471-476.