

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК: 616.311:616.33/34+616.366/36]:615.33

*С.А Демьяненко*

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СТОМАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОФЛАВОНОИДНЫХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ПРИ ГЕПАТО-ОРАЛЬНОМ СИНДРОМЕ

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

Биофлавоноиды – класс органических соединений, в основе строения которых лежит трицикл флавана. В зависимости от особенностей строения молекул производных флавана различают 8 классов флавоноидных соединений, насчитывающих свыше 5 тысяч природных представителей [Левицкий, 2010].

Открытые Альбертом Сцент-Дьёрди более 75 лет тому назад и получившие определение как витамин-Р (витамин проницаемости), эти вещества выполняют в животном организме капилляроукрепляющую функцию [Шамрай, Федуров, 1979]. В механизме биологического действия флавоноидов лежит, прежде всего, их мощная антиоксидантная активность, по силе которой они превосходят многие другие хорошо известные антиоксиданты (витамины Е, С и др.) [Middleton et al., 2000; Andersen, Markham, 2005].

Среди множества биологических функций флавоноидов в последние годы оказались наиболее востребованными их остеопротекторная [Макаренко, 2011] и гепатопротекторная функции [Дворкина, 2004].

Как известно, печень играет важную роль в защите от инфекционных факторов [Яковлев, 1988; Петухов и др., 2004; Левицкий и др., 2011]. Ткани ротовой полости также испытывают патологические воздействия печени и дисбиотических факторов при гепато-билиарной патологии (так называемый «гепато-оральный синдром» [Левицкий и Демьяненко, 2012]).

**Целью нашего исследования** явилось изучение стоматопротекторных свойств биофлавоноидных гепатопротекторов, полученных из проростков пшеницы (препарат "Биотрит") из виноградной выжимки (препарат "Экстравин") и препарата чистого кверцетина при экспериментальном гепатите и дисбиозе.

#### Материал и методы.

В настоящей серии исследований в качестве препаратов биофлавоноидов были избраны био-

трит (комплекс полифенолов и других биологически активных веществ (БАВ) из проростков пшеницы), экстравин (комплекс полифенолов и других БАВ из виноградной выжимки) и кверцетин в гранулах.

Были использованы биотрит-С (ТУ У 013903778-41-96), экстравин (ТУ У 15.8-34737476-001.2007) и кверцетин-гранулы (содержание кверцетина 40 мг/г). Первые два препарата производства НПА "Одесская биотехнология", третий – Борщаговского ХФЗ.

Для экспериментальных исследований были взяты 40 крыс-самцов линии Вистар (возраст 1 месяц, средняя масса  $80 \pm 6$  г), которых распределили в 4 группы: 1-я – контроль; 2-я, 3-я и 4-я – опытные группы, у которых воспроизводили дисбиоз и гепатит. Животные третьей группы получали с 1-го по 28-й день включительно ежедневно с кормом по 200 мг/кг биотрита, животные 4-й группы получали с питьевой водой экстравин в дозе 5 мл/кг (в пересчете на сухое вещество 200 мг/кг). Крысы 5-й группы получали кверцетин-гранулы по 100 мг/кг (в пересчете на чистый кверцетин – 4 мг/кг). После 12 дней предварительного введения препаратов всем крысам опытных групп для воспроизведения дисбиоза начинали давать с питьевой водой антибиотик линкомицин в дозе 50 мг/кг живой массы. Линкомицин давали в течение 5 дней.

На 22 сутки всем опытным крысам для воспроизведения гепатита ввели однократно внутримышечно гидразин солянокислый в дозе 100 мг/кг [Пустовойт П.И., 1983]. Умерщвление животных осуществляли на 23-й день опыта под тиопенталовым наркозом путем тотального кровопускания из сердца.

В гомогенатах СОПР определяли уровень маркеров воспаления: концентрацию малонового диальдегида (МДА), общей протеолитической активности (ОПА), показателей микробной обсеменности – активности уреазы, индикатора неспецифической защиты – активности лизоцима и по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима – показателю степени дисбиоза. В

нашей работе мы взяли за основу ферментативный метод неспецифической оценки микробной обсемененности для экспресс-определения дисбиоза. Метод отражает наличие микробной обсемененности по суммарному содержанию фермента уреазы, который продуцируется значительным числом условно патогенных бактерий: энтеробактерами, стафилококками и др. Уреазу определяли по гидролизу мочевины (карбомида) с последующим измерением концентрации аммиака с помощью реактива Несслера – методу Гавриковой и Сегень(1996). Лизоцим определяли по скорости лизиса стандартной культуры *Micrococcus Lyzodeiktiens* по методу Левицкого (2005).

Уровень антиоксидантной защиты слизистой оценивали по активности каталазы, а по соотношению активности каталазы и концентрации МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ).

### Результаты и их обсуждение.

В табл.1 представлены результаты определения уровня маркеров воспаления в слизистой щеки крыс с токсическим гепатитом, развившемся на фоне кишечного дисбиоза.

Как видно из этих данных, уровень обоих маркеров воспаления в слизистой щеки крыс с гепатитом на фоне дисбиоза достоверно повысился, причем в большей степени повысилась ОПА.

Все три препарата биофлавоноидов снизили уровень маркеров воспаления, особенно эффективным оказался кверцетин, который снизил концентрацию МДА более чем в 2 раза.

Из двух маркеров воспаления более чувствительной оказалась ОПА, которая достоверно снижалась при действии всех трех исследованных препаратов.

Таблица 1  
Влияние препаратов полифенолов на уровень маркеров воспаления в слизистой щеки крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, п	МДА, ммоль/кг	ОПА, нкат/кг
1. Контроль	8	15,8±1,4	20,7±2,4
2. Дисбиоз + гепатит	8	19,7±1,1 p<0,05	37,9±2,5 p<0,001
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	16,6±2,0 p>0,4 p <sub>1</sub> >0,05	26,5±3,0 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	17,8±1,3 p>0,2 p <sub>1</sub> >0,3	29,0±3,0 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	9,4±0,2 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	27,2±1,3 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

В табл.2 представлены результаты определения маркеров воспаления в слизистой языка крыс с токсическим гепатитом на фоне кишечного дисбиоза.

Как видно из этих данных, сочетанная патология (гепатит + дисбиоз) вызывают и в слизистой языка развитие воспалительно-дистрофических процессов, о чем свидетельствует повышение уровня обоих маркеров воспаления. Как и в сли-

зистой щеки, кверцетин сильнее других препаратов снижает уровень МДА.

Результаты проведенных нами опытов свидетельствуют о том, что при токсическом гепатите (в сочетании с дисбиозом) наблюдаются существенные патологические изменения в СОПР, проявляющиеся повышением концентрации МДА и ОПА.

Таблица 2  
Влияние препаратов полифенолов на уровень маркеров воспаления в слизистой языка крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, п	МДА, ммоль/кг	ОПА, нкат/кг
1. Контроль	8	16,2±0,4	36,9±3,3
2. Дисбиоз + гепатит	8	20,5±1,1 p<0,05	53,1±3,2 p<0,01
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	16,2±1,0 p=1 p <sub>1</sub> <0,05	38,6±2,8 p>0,4 p <sub>1</sub> <0,01
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	17,3±1,2 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	37,8±3,2 p>0,6 p <sub>1</sub> <0,01
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	14,3±0,2 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	42,5±2,4 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

Одной из возможных причин развития воспалительно-дистрофических процессов в СОПР может быть микробный фактор, проявляющий себя в большей степени при сочетании кишечного дисбиоза с гепато-билиарной патологией.

Представленные в табл.3 и табл.4 данные свидетельствуют о том, что при сочетании гепатита с кишечным дисбиозом развивается дисбиоз СОПР, обусловленный, главным образом, резким снижением активности ведущего фактора неспецифического иммунитета – лизоцима [Левицкий, 2005].

Особенно сильно снижается активность лизоцима в слизистой языка (в 10 раз).

Именно изменение активности лизоцима является определяющим в формировании состояния дисбиоза, патогенное влияние которого на организм реализуется через систему микробных токсинов и, прежде всего, – через воздействие на ретикуло-эндотелиальную систему печени кишечного эндотоксина – липополисахарида (ЛПС) [Яковлев, 1988].

Таблица 3  
Влияние препаратов полифенолов на активность лизоцима, уреазы и степень дисбиоза в слизистой щеки крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, n	Лизоцим, ед/кг	Уреаза, мк-кат/кг	Степень дисбиоза
1. Контроль	8	620±57	1,50±0,26	1,00±0,10
2. Дисбиоз + гепатит	8	391±39 p<0,05	2,22±0,27 p>0,05	2,35±0,25 p<0,001
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	450±45 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,1	1,65±0,19 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	1,55±0,16 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	465±38 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05	1,42±0,52 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05	1,46±0,15 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	357±22 p<0,01 p <sub>1</sub> >0,3	1,69±0,20 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	1,94±0,19 p<0,01 p <sub>1</sub> >0,1

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

Таблица 4  
Влияние препаратов полифенолов на активность лизоцима, уреазы и степень дисбиоза в слизистой языка крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, n	Лизоцим, ед/кг	Уреаза, мк-кат/кг	Степень дисбиоза
1. Контроль	8	205±25	2,14±0,15	1,00±0,10
2. Дисбиоз + гепатит	8	20±5 p<0,001	2,33±0,27 p>0,3	10,90±1,45 p<0,001
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	150±20 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,001	1,94±0,22 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,1	1,25±0,21 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,001
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	221±23 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,001	2,27±0,25 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,5	0,98±0,13 p>0,9 p <sub>1</sub> <0,001
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	100±15 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01	2,25±0,13 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,7	2,14±0,30 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

Ранее нами было показано, что парентерально введенный ЛПС вызывает развитие воспалительно-дистрофических процессов в СОПР (литература).

Все три препарата биофлавоноидов достоверно снижают степень дисбиоза в слизистых щеки и языка.

Устранение дисбиотического фактора, по-видимому, предопределяет лечебно-профилактическое действие полифенольных препаратов при воспалительно-дистрофических заболеваниях СОПР.

Слизистая щеки оказалась более устойчивой к патогенным воздействиям гепатита и дисбиоза по

сравнению со слизистой языка (в последней степени дисбиоза составила 10,9, тогда как в щеке – лишь 2,35). Вполне вероятно, что эта особенность слизистой щеки обусловлена очень высоким содержанием лизоцима (в 3 раза больше, чем в языке).

Более высокая резистентность слизистой щеки может быть связана и с более высоким уровнем системы антиоксидантной защиты. Так, активность каталазы и показатель индекса АПИ в слизистой щеки более чем в 2 раза превышает соответствующий показатель слизистой языка (табл.5 и 6).

Таблиця 5  
Влияние препаратов полифенолов на активность каталазы и показатель индекса АПИ в слизистой щеки крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, n	Каталаза, мкат/кг	АПИ
1. Контроль	8	9,00±0,13	5,67±0,28
2. Дисбиоз + гепатит	8	8,37±0,22 p<0,05	4,25±0,27 p<0,02
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	9,67±0,33 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01	5,82±0,35 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	9,30±0,25 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,02	5,22±0,31 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	9,06±0,12 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	9,64±0,54 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

Представленные в табл.5 и 6 данные показывают, что все препараты полифенолов достоверно повышают уровень антиоксидантной защиты в СОПР, причем наиболее эффективен в этом пла-

не кверцетин, что согласуется с результатами исследований О.А. Макаренко, показавшей высокие антиоксидантные свойства кверцетина [Макаренко, 2011].

Таблиця 6  
Влияние препаратов полифенолов на активность каталазы и показатель индекса АПИ в слизистой языка крыс с токсическим гепатитом на фоне дисбиоза

Группы	Кол-во, n	Каталаза, мкат/кг	АПИ
1. Контроль	8	4,30±0,07	2,65±0,18
2. Дисбиоз + гепатит	8	3,75±0,07 p<0,001	1,83±0,17 p<0,05
3. Дисбиоз + гепатит + биотрит	8	3,87±0,08 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,1	2,39±0,23 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05
4. Дисбиоз + гепатит + экстравин	8	3,85±0,07 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,1	2,25±0,20 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05
5. Дисбиоз + гепатит + кверцетин	8	4,14±0,07 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01	2,89±0,21 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01

Примечание: p – показатель достоверности различий с контролем;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой "дисбиоз+гепатит".

Таким образом, гепатит на фоне кишечного дисбиоза вызывает развитие дисбиотических явлений в СОПР и как следствие - развитие воспалительно-дистрофических процессов, предотвратить которые можно с помощью полифенольных препаратов биотрита, экстравина и кверцетина. Действующим агентом в этих препаратах являются, по-видимому, биофлавоноиды, поскольку аналогичные биологические эффекты оказывает и чистый кверцетин. Полученные экспериментальные данные служат обоснованием применения биофлавоноидных гепатопротекторов на стоматологическом приеме при наличии у пациентов симптомов гепато-орального синдрома, а также при проведении антибактериальной терапии.

### Литература

1. Левицкий А.П. Структура и функция растительных полифенолов / А.П. Левицкий // Вісник стоматології. - 2010. - № 5. - С. 18-20.
2. Шамрай Е.Ф. Биофлавоноиды (витамин Р); под ред. Ю.М. Островского / Е.Ф. Шамрай, В.В. Федуров // Экспериментальная витаминология (справочное пособие). – Минск: Наука и техника, 1979. – 552 с.
3. Andersen O.M. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / O.M. Andersen, K.R. Markham // Taylor and Francis CRC Press. - 2005. 1256 p.
4. Middleton E. Jr. The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer / E. Jr. Middleton, C. Kandaswami, T.C. Theoharides // Pharmacol. Rev. – 2000. – Vol. 52, № 4. – P. 673-751.
5. Макаренко О.А. Биохимические механизмы остеотропного действия флавоноидов: дис. ... доктора биол. наук: 03.00.04 / Макаренко О.А. - Одесса, 2011. - 40 с.
6. Доркина Е.Г. Изучение гепатопротекторного действия природных флавоноидных соединений / Е.Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. - Т. 67, № 6. - С. 41-44.

7. Петухов В.А. Нарушения функций печени и дисбиоз при липидном дистресс-синдроме Савельева: современный взгляд на проблему / В.А. Петухов, Л.А. Стернина, А.Е. Травкин // Гепатология. - 2004. - Т. 6, № 6. - С. 406.
8. Яковлев М.Ю. Роль кишечной микрофлоры и недостаточности барьерной функции печени в развитии эндотоксинемии и воспаления / М.Ю. Яковлев // Казанский медицинский журнал. - 1988. - Т. 69, № 5. - С. 353-358.
9. Левицкий А.П. Антимикробная функция печени / Левицкий А.П., Демьяненко С.А., Цисельский Ю.В. – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 с.
10. Пустовойт П.И. Клинико-экспериментальное обоснование применения ингибиторов протеаз при заболеваниях желчевыводящих путей: дис. ... канд. мед. наук / Пустовойт П.И. - Одесса, 1983. - 210 с.
11. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков / Левицкий А.П. – Одесса: КП ОГТ, 2005. - 74 с.
12. Левицкий А.П. Гепато-оральный синдром / Левицкий А.П., Демьяненко С.А. – Симферополь, 2012. – 136 с.

**Стаття надійшла  
19.08.2013 р.**

#### Резюме

При моделировании токсического гепатита на фоне кишечного дисбиоза в слизистой полости рта развиваются воспаление и дисбиоз. Предварительное введение препаратов «Биотрит-С» или «Экстравин» предотвращает развитие дисбиоза и воспаления слизистой. Аналогичное действие оказывает и препарат кверцетин.

**Ключевые слова:** гепатит, дисбиоз, слизистая полости рта, полифенолы, кверцетин.

#### Резюме

При моделюванні токсичного гепатиту на тлі кишкового дисбіозу в слизовій порожнині рота розвиваються запалення і дисбіоз. Попереднє введення препаратів «Біотрит-С» або «Екстравін» запобігає розвитку дисбіозу і запаленню слизової. Аналогічну дію виконує і препарат кверцетин.

**Ключові слова:** гепатит, дисбіоз, слизова порожнини рота, поліфеноли, кверцетин.

#### Summary

At modeling of toxic hepatitis on an intestinal dysbiosis in the oral cavity is an inflammation and dysbiosis. Previous administration such drugs as "Biotrit-C" or "Ekstravin" prevents the development of dysbiosis and inflammation of the mucous membrane. Quercetin has similar effect.

**Key words:** hepatitis, dysbiosis, oral mucosa, polyphenols, quercetin.