

УДК: (616.314.163-08.001.57+678.446.47):599.323.4

А.В. Николаева

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ, ВИТАМИНА К И МИНЕРАЛОВ НА СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРОДОНТИТА

Государственное учреждение «Институт стоматологии НАМН Украины»

Вступление.

Процессы воспаления сопровождаются деструктивными изменениями в соединительной ткани (СТ) в пародонте. Заболевания пародонта приводят к дегенерации СТ десны и разрушению его костных структур. Для нормального функционирования СТ необходимы витамины, в т.ч. и витамин К. В то же время известно, что К-авитаминоз значительно снижает уровень основных биополимеров межклеточного матрикса (МКМ) соединительной ткани [1;2].

Нами было предпринято моделирование экспериментального пародонтита суммарным пероральным введением антагониста витамина К – варфарина и купренила, обладающего комплексобразующими свойствами, в отношении ионов металлов. Кроме того, купренил оказывает многостороннее действие на метаболизм коллагена, связывая его поперечные волокна и блокируя синтез.

Существенную роль в поддержании жизнедеятельности клетки играют растительные полифенолы (ПФ). Трава Тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) содержит оксигензойные кислоты, ксантоны, около 3 % флавоноидов, а также минеральные вещества [3]. Препарат ПФ надземной части Тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) («Виола», Запорожье, Украина) с рабочим названием ПФТ получен нами в лабораторных условиях [4]. Представляет несомненный интерес изучение защитных механизмов растительных ПФ, витамина К и минералов, заместительного восполняющих нарушенное при пародонтите структурно-функциональное состояние пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита.

Цель исследования – изучение защитных эффектов комплекса препарата полифенолов травы Тысячелистника обыкновенного, викасола и минералов на состояние тканей пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита.

Материалы и методы исследования.

В опыт взяты 28 крыс-самок 1,5-мес. возраста, которые содержались на стандартном рационе вивария. Интактную группу составили 12 особей (I группа). Во 2-й группе моделировали экспериментальный пародонтит у 8 крыс, которые получали суммарно антагонист витамина К – варфарин в дозе 1 мг/кг массы тела крыс 5 дней в неделю, а также с питьевой водой купренил (производства

АТ ТЕВА, Польша) в дозе 20 мг/кг массы тела крыс 7 дней в неделю. Крысам 3-й группы (8 шт.) на фоне суммарного введения варфарина и купренила 8 крысам вводили рег ос комплекс препарата ПФТ (0,1 мл/100г) с викасомом (производства Борщагівського ХФЗ, Украина) в дозе 1,5 мг/крысу в сутки), а также 1 табл./8 крыс минерального комплекса «Дуовит» (производства КРКА, Словения). 1 табл. комплекса «Дуовит» содержит 8 минералов: 20 мг магния лактат, 15 мг кальция гидрофосфат, 12 мг натрия гидрофосфат, 10 мг железа фумарат, 3 мг цинка сульфат, 1 мг марганца сульфат, 1 мг меди сульфат, 0,1 натрия молибдат. Длительность опыта составила 55 дней.

Крыс выводили из опыта путем тотального кровопускания из сердца, проводимого под наркозом (тиопентал натрия 40 мг/кг). Предварительно отделив десну, вычленили верхние и нижние челюсти, выделяли печень. Выделенные челюсти подвергали морфометрическому исследованию [5]. Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови, надосадочная жидкость гомогенатов печени, десны и кости альвеолярного отростка. Надосадочную жидкость получали путем центрифугирования в центрифуге РС-6 в течение 15 минут при 3000 об/мин при температуре +4°C.

Состояние соединительной ткани крыс оценивали по содержанию сиаловых кислот в сыворотке крови с помощью набора («ЭкоСервис», Россия - сер. 0910), гликозаминогликанов (ГАГ) в тканях пародонта [6]. Для оценки состояния тканей крыс определяли биохимические показатели унифицированными методами, используя коммерческие наборы реактивов: активность щелочной фосфатазы (ЩФ) («DAC-SpectroMed», Молдова – сер. 39/100); активность кислой фосфатазы (КФ) («DAC-SpectroMed», Молдова – сер. 11/45); кальция («DAC-SpectroMed», Молдова – сер. 18/200); фосфора («DAC-SpectroMed», Молдова – сер. 20/200); содержание магния («DAC-SpectroMed», Молдова – сер. 18/100). Уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) тиобарбитуровым методом [7], определяли активность глутатион-пероксидазы (ГПО) [8] и каталазы [9].

Результаты экспериментов обрабатывали методами с использованием t-критериев достоверности по Стьюденту.

Результаты исследования.

Изучение влияния комплекса препарата ПФТ с витамином К₃ (викасол) и минералами препарата «Дуовит» было проведено в условиях моделирования пародонтита суммарным введением варфарина и купренила [10].

Хроническое введение варфарина и купренила в течение 55 дней вызвало усиление резорбции костных структур пародонта: на 27 % – на нижней челюсти и на 24 % - на верхней по сравнению с показателями в интактной группе (табл. 1).

Таблица 1
Влияние комплекса на показатели резорбции кости альвеолярного отростка крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m)

Группы животных	Показатели резорбции (%)	
	нижняя челюсть	верхняя челюсть
Интактная	30,7±1,5	22,2±0,9
Модель	39,1±0,8 p<0,001	27,5±1,8 p<0,02
Модель+комплекс	31,9±1,5 p ₁ <0,001	24,3±1,4 p ₁ >0,05

Примечание: в табл. 1-5 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы; p₁ – относительно группы «Модель пародонтита».

Усилению остеорезорбтивных процессов в кости альвеолярного отростка челюстей при моделировании пародонтита предшествовала активация остеокластов, маркерным ферментом которых является кислая фосфатаза: выявлено повышение активности этого фермента в альвео-

лярной кости в 3 раза (различия статистически значимы). Повышение активности кислой фосфатазы в мягких тканях пародонта в 2,5 раза свидетельствует об усилении и воспалительных явлений (табл.2).

Таблица 2
Влияние комплекса на активность кислой фосфатазы в тканях пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m)

Группы животных	Активность КФ (рН 4,8) (ммоль/с-г)	
	десна	альвеолярная кость
Интактная	3,51±1,27	1,01±0,45
Модель	8,82±0,17 p<0,001	3,08±0,60 p<0,02
Модель+комплекс	7,52±2,18 p>0,05 p ₁ >0,05	1,19±0,81 p>0,05 p ₁ >0,05

Содержание гликозаминогликанов – основного вещества МКМ соединительной ткани - снижалось в результате моделирования пародонтита: в дес-

не – на 26 %; в альвеолярной кости – на 10 %, однако не до уровня статистически значимых различий (табл.3).

Таблица 3
Влияние комплекса на содержание ГАГ в тканях пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m)

Группы животных	Содержание ГАГ (мг/г)	
	десна	альвеолярная кость
Интактная	6,76±0,004	21,1±0,41
Модель	5,00±1,45 p>0,05	18,9±5,9 p>0,05
Модель+комплекс	7,69±0,33 p<0,02 p ₁ >0,05	37,0±6,8 p<0,05 p ₁ >0,08

Моделирование пародонтита вызвало усиление процессов ПОЛ в печени, десне и костной ткани пародонта. Так, уровень МДА в печени повышался в 1,4 раза; в кости альвеолярного отростка – в 3,6 раза (различия в обоих случаях статистически значимы), в десне существенно не изменялся. При этом в изученных тканях выявлено

снижение активности антиоксидантных ферментов: каталаза в печени снижалась на 19 %; в десне – на 14 %. Глутатион-пероксидаза в печени снижалась на 38 %, в десне не изменялась. Снижение активности ГПО в кости пародонта наблюдалось только по сравнению с интактной группой (табл.4).

Таблиця 4
Влияние комплекса на содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в печени и тканях пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m)

Показатели	Группы животных		
	интактная	модель	модель+комплекс
Печень			
Содержание МДА (нмоль/г)	95,0±6,79	133±2,42 p<0,001	83,9±7,62 p>0,05 p ₁ <0,001
Активность каталазы (мкат/г)	86,5±4,01	70,3±7,89 p>0,05	87,8±3,84 p>0,05 p ₁ >0,05
Активность ГПО (мкмоль/с·г)	20,7±2,1	12,9±2,2 p<0,02	59,9±6,42 p<0,001 p ₁ <0,001
Десна			
Содержание МДА (нмоль/г)	19,3±2,2	18,1±0,8 p>0,05	11,2±0,7 p<0,01 p<0,001
Активность каталазы (мкат/г)	33,1±1,2	28,6±1,2 p<0,05	29,9±3,51 p>0,05 p ₁ >0,05
Активность ГПО (мкмоль/с·г)	34,1±4,65	39,8±11,6 p>0,05	52,3±6,13 p<0,05 p ₁ >0,05
Альвеолярная кость			
Содержание МДА (нмоль/г)	5,7±0,6	20,7±3,0 p<0,001	9,6±1,1 p<0,01 p ₁ <0,01
Активность каталазы (мкат/г)	10,2±0,0	7,55±1,52 p>0,05	9,46±2,71 p<0,05 p ₁ >0,05
Активность ГПО (мкмоль/с·г)	28,3±2,86	18,0±4,06 p>0,05	24,8±2,46 p<0,05 p ₁ >0,05

При моделировании пародонтита в кости пародонта наблюдалось значительное повышение содержания фосфора (в 1,7 раза). При этом ак-

тивность щелочной фосфатазы и концентрация кальция существенно не изменялись (табл.5).

Таблиця 5
Влияние комплекса на состояние минерального обмена в костной ткани пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m)

Группы животных	Активность ЩФ (нмоль/с·г)	Содержание	
		Ca (ммоль/г)	P (ммоль/г)
Интактная	0,17±0,03	0,023±0,004	0,006±0,001
Модель	0,14±0,05 p>0,05	0,020±0,006 p>0,05	0,010±0,001 p<0,05
Модель+комплекс	0,41±0,02 p<0,001 p ₁ <0,001	0,012±0,001 p<0,05 p ₁ >0,05	0,006±0,001 p>0,05 p ₁ <0,05

Под воздействием перорально вводимого комплекса, включающего препарат ПФТ, викасол и «Дуовит», резорбция костной ткани пародонта в условиях моделирования пародонтита существенно снижалась: на 18 % - на нижней челюсти; на 12 % - на верхней (табл.1). При этом активность кислой фосфатазы в кости альвеолярного отростка под действием комплекса снижалась в 2,6 раза (табл. 2). Содержание ГАГ в тканях пародонта значительно повышалось по сравнению с контрольной группой: в десне уровень ГАГ повышался в 1,5 раза; в кости пародонта - вдвое (табл. 3). Уровень ГАГ в мягких и твердых тканях пародонта существенно превышал таковой в интактных группах.

Под действием комплекса в условиях моделирования пародонтита уровень МДА снижался в печени на 37 %; в кости альвеолярного отростка - на 53 % (табл. 4). Косвенно об ослаблении воспалительных явлений в мягких тканях пародонта под действием комплекса свидетельствовало достоверное снижение содержания МДА в десне

на 15 % по сравнению с контрольной группой. Снижение уровня перекисных процессов выявлено также по сравнению с интактной группой (табл.4). Под действием комплекса в печени и тканях пародонта экспериментальных животных наблюдалась активация антиоксидантных ферментов. Так, в печени активность каталазы повышалась на 25 %; активность ГПО - в 4,6 раза (табл. 4). Активность ГПО в десне повышалась на 31 % по сравнению с контрольной группой. В кости альвеолярного отростка активность ГПО повышалась - на 38 %, соответственно, практически достигая их уровня в интактных группах (табл.4).

Комплекс значительно улучшал минеральный обмен в кости пародонта крыс: активность щелочной фосфатазы повышалась относительно контрольной группы в 2,9 раза, что свидетельствует об активации остеобластов, т.к. ЩФ - их маркерный фермент в костной ткани. Уровень ионов Ca²⁺ существенно не изменялся, а содержание фосфата нормализовалось по сравнению с интактной группой (табл.5).

Заключення.

Хроническое суммарное введение варфарина и купренила в течение 55 дней вызвало развитие деструктивных изменений в тканях пародонта экспериментальных животных, о чем свидетельствует усиление резорбции альвеолярной кости на фоне активизации остеобластов, процессов перекисного окисления липидов при недостаточном функционировании системы антиоксидантной защиты.

Комплекс, включающий полифенолы тысячелистника, викасол и минерально-витаминный препарат «Дуовит», в условиях воспроизведения экспериментального пародонтита оказал положительное анаболическое воздействие на ткани пародонта крыс, что проявилось в снижении интенсивности остеорезорбтивных процессов в костной ткани.

Литература

1. Шараев П. Н. Роль витамина К в обмене биополимеров соединительной ткани (обзор) / Шараев П. Н. // Вопросы медицинской химии. – 1983. – С. 13-17.
2. Сокольников А. А. Функциональная роль витамина К / А. Сокольников, В. Коденцова // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45. – С. 453-461.
3. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) / Н. Шаталина, Г. Первышина, А. Ефремов, Г. Гордиенко [и др.] // Химия растительного сырья. – 2002. – № 3. – С. 13-16.
4. Ткаченко Е.К. Разработка лабораторной технологии получения и количественное определение су-

ммарного содержания ПФ в концентрате надземной части *Achillea Millefolium* L. / Е. Ткаченко, С. Носийчук // Вісник стоматології. – 2009. – №2. – С. 82-85.

5. Николаева А.В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей при раздражении верхнего шейного симпатического узла: автореф. дис. на соискание науч. ступени канд. мед. наук: спец. 14.01.22 «Стоматология» / А. Николаева. – Харьков, 1967. – 29 с.
6. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Шараев, В. Пишков, Н. Соловьева [и др.] // Лабораторное дело. – 1987. – 5. – С. 330-332.
7. Стальная И.Д. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // Современные методы биохимии; под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С.63-64.
7. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н.Козлянина, Г. Крюкова. – Опубл. 25.04.82, Бюл. №15. – 2 с.
8. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк, Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.
9. Николаева А.В. Модель нарушений структурно-функционального состояния СТМ пародонта крыс / А. В. Николаева // Лабораторная диагностика. Восточная Европа – Белоруссия. – 2014. – № 2. – С. 121-127.

**Стаття надійшла
29.02.2016 р.**

Резюме

В опытах на 28 крысах-самках 1,5-мес. возраста изучали влияние комплекса растительных полифенолов травы Тысячелистника обыкновенного, викасола и минералов препарата «Дуовит». Интактную группу составили 12 особей (I группа). Во 2-й группе (8 крыс) моделировали пародонтит суммарным введением варфарина и купренила. В 3-й группе (8 крыс) в условиях моделирования пародонтита вводили рег ос комплекс препарата ПФТ, викасола и минералов.

Моделирование пародонтита вызвало усиление резорбции кости альвеолярного отростка; тенденцию снижения содержания ГАГ; усиление перекисных продуктов при недостаточном функционировании антиоксидантных ферментов в тканях пародонта. Комплекс растительных полифенолов, викасола и минералов восполнял нарушенное при пародонтите структурно-функциональное состояние пародонта крыс. Он оказал положительное анаболическое действие на ткани пародонта.

Ключевые слова: комплекс, растительные полифенолы, минералы, витамин К, моделирование, пародонт, крысы.

Резюме

У дослідях на 28 щурах-самках 1,5-міс. віку вивчали вплив комплексу рослинних поліфенолів трави Дерев'я звычайного, вікасолу і мінералів препарату «Дуовіт». Інтактну групу склали 12 особин (I група). У 2-й групі (8 щурів) моделювали пародонтит сумарним уведенням варфарину і купренілу. У 3-й групі (8 щурів) в умовах моделювання пародонтиту вводили рег ос комплекс препарату ПФТ, вікасолу і мінералів.

Моделювання пародонтиту викликало посилення резорбції кістки альвеолярного відростка; тенденцію зниження вмісту ГАГ; посилення перекисних продуктів при недостатньому функціонуванні антиоксидантних ферментів у тканинах пародонта. Комплекс рослинних поліфенолів, вікасолу і мінералів відновлював порушений при пародонтиті структурно-функціональний стан пародонта щурів. Він виконав сприятливу анаболітичну дію на тканини пародонта.

Ключові слова: комплекс, рослинні поліфеноли, мінерали, вітамін К, моделювання, пародонт, щури.

UDC: (616.314.163-08.001.57+678.446.47):599.323.4

THE INFLUENCE OF THE COMPLEX OF PLANT POLYPHENOLS, VITAMIN K AND MINERALS IN THE STATE OF PERIODONTAL TISSUES OF RATS MODELING THE CONDITIONS OF PERIODONTITIS

A.V. Nikolaieva, Ph. M. D.

State Establishment «The Institute of Stomatology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Summary

It was studied the effects of the complex of plant polyphenols of *Achillea millefolium*, vikasol and minerals of the Duovit during the experiments on 28 female-rats, 1,5 months age. Intact group consisted of 12 rats (I group). In the 2nd group (8 rats) was modeled periodontitis by the summary introduction of the warfarin and kuprenil. In the third group (8 rats) per os introduced the complex of the polyphenols of *Achillea millefolium*, vikasol and minerals in the conditions of modeling the periodontitis.

Modelling of periodontitis caused an increase of the bone resorption of the alveolar bone; tendency to reducing the content of GAG; gain of the peroxide products at insufficient functioning of antioxidant enzymes in periodontal tissues. The complex of plant polyphenols, minerals and vikasol made up the disturbed in periodontitis structural and functional state of the periodontal of rats. It had a positive anabolic effect on periodontal tissue.

The purpose of the experiment was to study the protective effects of the complex preparation of polyphenols herb Yarrow, vikasola and minerals on the condition of periodontal tissues of rats in conditions of modeling of periodontitis.

We have made a model of the total experimental periodontitis by oral administration of the antagonist of vitamin K – warfarin and kuprenil having complexing properties in respect of metal ions. In addition, kuprenil produces a multiple effect on the metabolism of collagen, its cross-linking fibers and inhibiting synthesis.

Materials and research methods. It was studied the effects of the complex of plant polyphenols of *Achillea millefolium*, vikasol and minerals of the Duovi during the experiments on 28 female-rats, 1,5 months age. Intact group consisted of 12 rats (I group). In the 2nd group (8 rats) was modeled periodontitis by the summary introduction of the warfarin and kuprenil. In the third group (8 rats) per os introduced the complex of the polyphenols of *Achillea millefolium*, vikasol and minerals in the conditions of modeling the periodontitis.

Rats were sacrificed by total bloodletting from the heart, carried out under anesthesia (sodium thiopental 40 mg/kg). Pre-separating the gums, but also identifying the upper and lower jaw, singled out the liver. Dedicated jaws were subjected to morphometric study. Objects of biochemical studies were blood serum, the supernatant of homogenates of the liver, gums and alveolar bones. The supernatant was obtained by centrifugation in the centrifuge RS-6 for 15 minutes at 3000 rpm at 4°C.

Results of researches and their discussion.

The analysis of the effect of the drug CFT with vitamin K3 and minerals of the drug Duovit were performed in simulation periodontitis total introduction of warfarin and kuprenil.

Chronic administration of warfarin and kuprenil in the duration of the 55 days led to an increase of resorption of bone structures of the periodontium.

Strengthening osteoreparative processes in the alveolar bone of the jaws preceded activation of osteoclasts, increase activity of acid phosphatase in the object of study in 3 times as a measure of reactivity of osteoclasts, the marker enzyme is acid phosphatase. The increased activity of the proinflammatory enzyme acid phosphatase in the soft tissues of the periodontium 2.5 times says about the increased inflammatory phenomena in the simulation of periodontitis.

The concentration of sialic acid was increased by 24 %: $2,22 \pm 0,24$ mmol/l compared with intact group: $1,79 \pm 0,27$ mmol/l increase in the level of sialic acids showed the destruction of glycoproteins CT in inflammation. The content of glycosaminoglycans – the main substance of MICRONS of connective tissue decreased as a result of simulation of periodontitis: the gum – 26 %.

Under the influence of the orally administered complex which is a polyphenol yarrow, menadione & minerals drug Duovit, bone resorption in periodontal conditions modeling of periodontitis decreased significantly: by 18% in the lower jaw and by 12 % – in the upper jaw. The activity of acid phosphatase in alveolar bone under the effect of the complex decreased in 2.6 times. The content of glycosaminoglycans in periodontal tissues was significantly increased compared with the control group: in the gum level of glycosaminoglycans was increased 1.5 times more, and on the periodontis bone 2 times more.

Modelling of periodontitis caused an increase of the bone resorption of the alveolar bone; tendency to reducing the content of GAG; gain of the peroxide products at insufficient functioning of antioxidant enzymes in periodontal tissues. The complex of plant polyphenols, minerals and vikasol made up the disturbed in periodontitis structural and functional state of the periodontal of rats. It had a positive anabolic effect on periodontal tissue.

Keywords: complex, plant polyphenols, minerals, vitamin K, modeling, periodontal, rats.