

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.731-07.23.008+612.045

*А. П. Левицький, д. биол. н., Е. П. Ступак, к. мед. н.,  
О. А. Макаренко, д. биол. н.*

ГУ "Институт стоматологии НАМН"  
ВГУУ "Украинская медицинская стоматологическая  
академия"

**ВЛИЯНИЕ ФИТОГЕЛЕЙ С ПОЛИФЕНОЛАМИ  
НА СОСТОЯНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ  
ПАРОДОНТА КРЫС С САХАРНЫМ  
ДИАБЕТОМ 1 ТИПА**

*При моделировании у крыс сахарного диабета 1 типа с помощью аллоксана установлено увеличение в костной ткани нижней челюсти активности кислой фосфатазы и протеаз, а также значительное снижение индекса минерализации. При аппликации фитогелей, содержащих виноградную муку, кверцетин или хлорогеновую кислоту, показано снижение активности кислой фосфатазы и протеаз и нормализация индекса минерализации.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет, костная ткань пародонта, фосфатазы, протеазы, минерализация, фитогели, полифенолы.

*А. П. Левицький, О. П. Ступак, О. А. Макаренко*

ДУ "Институт стоматології НАМН"  
ВДУУ "Українська медична стоматологічна академія"

**ВПЛИВ ФІТОГЕЛЕЙ З ПОЛІФЕНОЛАМИ  
НА СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТА  
ЩУРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ**

*При моделюванні у щурів цукрового діабету 1 типу за допомогою алоксану встановлено підвищення в кістковій тканині нижньої щелепи активності кислої фосфатази і протеаз, а також значне зниження індекса мінералізації. Аплікації фітогелів з вмістом виноградного борошна, кверцетину або хлорогенової кислоти знижують активність кислої фосфатази і протеаз та нормалізують індекс мінералізації.*

**Ключові слова:** цукровий діабет, кісткова тканина пародонта, фосфатази, протеазы, мінералізація, фітогелі, поліфеноли.

*A. P. Levitskij, E. P. Stupak, O. A. Makarenko*

SE "the Institute of Dentistry of the NAMS"  
HSEE "Ukrainian Medical Dental Academy"

**THE INFLUENCE OF PHYTOGELS WITH  
POLYPHENOLS UPON THE STATE OF OSSEOUS  
TISSUE OF PERIODONTIUM IN RATS WITH  
TYPE I DIABETES MELLITUS**

*At the simulation of type I diabetes mellitus with alloxan in rats the growth of the activity of acid phosphatase and proteases, as well as the considerable reduction of the index of mineralization were revealed in the osseous tissue of lower jaw. At the application of phyto gels, containing grape powder, quercetin and chlorogenic acid, the reduction in the activity of acid phosphatase and proteases and the normalization of the index of mineralization were shown.*

**Key words:** diabetes mellitus, osseous tissue of periodontium, phosphatases, proteases, mineralization, phyto gels, polyphenols.

Влияние сахарного диабета на развитие патологических процессов в пародонте описано в ряде работ [1-3]. Показано, что гипергликемия способствует резорбции костной ткани пародонта [4] и снижению минеральной плотности кости нижней челюсти, особенно, на фоне сопутствующих заболеваний: диффузного токсического зоба [5] или язвы желудка [6]. Установлено снижение концентрации кальция в крови и повышение его экскреции с мочой у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа, ассоциированным с генерализованным пародонтитом [7-10].

В условиях *in vitro* на культуре человеческих фибробластов показано, что высокие концентрации глюкозы вызывают ряд морфологических изменений, опосредованных АТФ, усиливая апоптоз, активацию каспазы - 3 и секрецию ИЛ-6 [11]. Высокие концентрации глюкозы оказывают влияние на остеобласты путем активации протеинкиназы С, что сказывается на модуляции экспрессии провоспалительных цитокинов, коллагена I типа и остеокальцина [12].

В работах Ю. В Цисельского показано, что гипергликемия реализует свое действие на клетки и ткани через индукцию дисбиоза и увеличение содержания кишечного эндотоксина (липополисахарида), который, взаимодействуя с TOLL - рецепторами клеточных мембран запускает каскад провоспалительных реакций [13]. В качестве противодействия такому развитию событий этот автор предложил использовать фитопрепараты, содержащие полифенолы и обладающие антидисбиотическим действием [14].

**Цель настоящего исследования.** Изучение влияния на состояние костной ткани нижней челюсти биологически активных веществ из листьев винограда, содержащих большие количества биофлавоноидов и хлорогеновой кислоты.

**Материалы и методы исследования.** В качестве источника биологически активных веществ винограда была использована виноградная мука из высушенных листьев винограда сорта Изабелла, которую вводили в состав мукозального геля в количестве 20 мг/мл. Основу геля составляет Na-соль карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) в концентрации 2,5 %.

Кроме того, применяли аналогичный гель, однако вместо виноградной муки вводили кверцетин (2 мг/мл) или хлорогеновую кислоту (4 мг/мл). Использовали химически чистый кверцетин фирмы "Merck" (Германия) с содержанием кверцетина > 96 %. Препарат хлорогеновой кислоты (ХГК) содержал 50 % ХГК и был любезно предоставлен проф. В. И. Литвиненко (г. Харьков, ГНЦЛС).

Эксперименты были проведены на 31 белой крысе линии Вистар (самки, 10 месяцев, средняя масса 260±11 г), которых разделили на 5 групп: 1-ая группа

(17 крыс) - норма (интактные), 2-5-ая группы - с сахарным диабетом 1 типа, который воспроизводили путем однократного внутривентриального введения аллоксана в дозе 100 мг/кг. Крысам 2-й группы делали на слизистую полости рта (СОПР) ежедневные аппликации гелем КМЦ без биологически активных ве-

ществ (плацебо), крысы 3-й группы получали аппликации геля "Виноградный", 4-й группы – аппликации геля с кверцетином и 5-ой группы – аппликации геля с ХГК. Распределение крыс по группам, состав и дозы препаратов представлены в табл. 1.

Таблица 1

#### Характеристика групп крыс с сахарным диабетом 1 типа (СД1) (n=6)

№ п/п	Группы	Вводимый препарат	Доза на 1 крысу
1	Норма (интактные)	-	-
2	СД1 + плацебо	гель КМЦ	0,5 мл
3	СД1 + гель "Виноградный"	гель с виноградной мукой	0,5 мл 10 мг муки
4	СД1 + гель "Кверцетин"	гель с кверцетином	0,5 мл 1 мг
5	СД1 + гель "ХГК"	гель с хлорогеновой кислотой	0,5 мл 2 мг

Аппликации гелями проводили с первого дня и продолжали 20 дней.

Эвтаназию животных осуществляли на 21-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Вычленили нижнюю челюсть, очищали от мягких тканей и отделяли альвеолярный фрагмент челюсти, который хранили до исследования при -30°C.

В гомогенате кости (75 мг/мл 0,1М цитратного буфера, pH 6,1) определяли активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз [15], казеинолитическую активность (КА) [15] и активность эластазы [15].

В соответствии с рекомендациями [16] по соотношению активностей ЩФ и КФ рассчитывали индекс минерализации (ИМ), а по соотношению казеинолитической и эластазной активностей рассчитывали индекс коллагенообразования (ИКО).

Таблица 2

#### Влияние фитопрепаратов на активность фосфатаз костной ткани нижней челюсти крыс с сахарным диабетом 1 типа (СД1)

№ п/п	Группы	Щелочная фосфатаза, мк-кат/кг	Кислая фосфатаза, мк-кат/кг
1	Норма (интактные)	32,1±3,0	1,46±0,04
2	СД1 + плацебо	30,8±1,9 p>0,3	2,32±0,15 p<0,01
3	СД1 + гель "Виноградный"	31,1±2,3 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,6	1,57±0,24 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,05
4	СД1 + гель "Кверцетин"	36,8±2,3 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,05	1,96±0,93 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05
5	СД1 + гель "ХГК"	37,9±2,7 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	1,72±0,11 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05

*Примечание.* p – показатель достоверности различий с группой № 1;

p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой № 2.

**Результаты и их обсуждение.** В табл. 2 представлены результаты определения активности фосфатаз в костной ткани нижней челюсти крыс с диабетом 1 типа. Из этих данных видно, что активность ЩФ достоверно не изменяется при воспроизведении СД1. В отличие от ЩФ активность кислой фосфатазы при диабете достоверно возрастает в костной ткани крыс. Аппликации гелей в группах 2-5 достоверно снижают активность КФ практически до нормы и способствуют проявлению тенденции к повышению активности ЩФ (особенно после применения геля «ХГК»).

В табл. 3 представлены результаты определения активности протеаз в костной ткани нижней челюсти

крыс с СД1. Из этих данных видно, что активность обеих протеаз достоверно возрастает при диабете. Аппликации гелей с биологически активными веществами во всех случаях снижают протеолитическую активность, однако p>0,05 из-за значительного разброса данных.

В табл. 4 представлены значения индекса минерализации (ИМ) и индекса коллагенообразования (ИКО). Как видно, при СД1 достоверно снижается показатель ИМ, что свидетельствует о снижении минерализующей способности костной ткани при диабете. Аппликации гелями с виноградной мукой, с кверцетином или с ХГК достоверно увеличивают (практи-

чески до нормы) степень минерализации. Что же касается ИКО, то он практически не изменяется как при диабете, так и после аппликаций гелями с биологически активными веществами.

Таблица 3

**Влияние фитопрепаратов на активность протеаз костной ткани нижней челюсти крыс с сахарным диабетом 1 типа (СД1)**

№ п/п	Группы	КА, нкат/кг	Активность эластазы, мк-кат/кг
1	Норма (интактные)	27,8±3,2	5,33±0,33
2	СД1 + плацебо	37,8±3,1 p<0,05	6,45±0,43 p<0,05
3	СД1 + гель "Виноградный"	30,7±3,1 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	5,87±0,78 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,1
4	СД1 + гель "Кверцетин"	33,8±3,2 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,3	6,19±0,40 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,5
5	СД1 + гель "ХГК"	30,6±2,8 p>0,4 p <sub>1</sub> >0,05	5,90±0,40 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,3

*Примечание.* p – показатель достоверности различий с группой № 1;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой № 2.

Таблица 4

**Влияние фитопрепаратов на индекс минерализации (ИМ) и индекс коллагенообразования (ИКО) в костной ткани нижней челюсти крыс с сахарным диабетом 1 типа (СД1)**

№ п/п	Группы	ИМ	ИКО
1	Норма (интактные)	22,0±1,8	5,2±0,4
2	СД1 + плацебо	13,2±1,4 p<0,01	5,9±0,6 p>0,3
3	СД1 + гель "Виноградный"	19,8±2,1 p>0,2 p <sub>1</sub> <0,05	5,2±0,5 p=1 p <sub>1</sub> >0,5
4	СД1 + гель "Кверцетин"	18,8±1,9 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05	5,5±0,6 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,4
5	СД1 + гель "ХГК"	22,0±2,3 p=1 p <sub>1</sub> <0,01	5,2±0,5 p=1 p <sub>1</sub> >0,5

*Примечание.* p – показатель достоверности различий с группой № 1;  
p<sub>1</sub> – показатель достоверности различий с группой № 2.

Учитывая значительное сходство в характере действия гелей с виноградной мукой, кверцетином и ХГК, можно полагать, что активация минерализующей способности кости под влиянием аппликаций геля "Виноградный" обусловлена наличием в виноградной муке значительного количества биофлавоноидов и ХГК [17].

**Выводы:** 1. При сахарном диабете 1 типа в костной ткани достоверно увеличивается активность кислой фосфатазы и протеаз, значительно снижается индекс минерализации, что свидетельствует об активации остеолитического процесса.

2. Аппликации гелей, содержащих полифенольные соединения (виноградная мука, кверцетин, хлорогеновая кислота) предотвращают снижение активно-

сти кислой фосфатазы и протеаз и возвращают к норме индекс минерализации.

3. Индекс коллагенообразования в кости существенно не изменяется при сахарном диабете и под влиянием аппликаций гелями, содержащими полифенольные соединения.

**Список литературы**

1. **Безкоровайна М. З.** Историчні та сучасні погляди на морфолого-функціональний стан слинних залоз, слини, зубів і пародонта на тлі цукрового діабету / М. З. Безкоровайна, М. М. Якимець // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2006. – № 2. – С. 17-21.
2. **Сахарный диабет и воспалительные процессы в полости рта** / М. А. Райан, Р. Вильямс, С. Гросси [и др.] // Пародонтология. – 2006. – № 4 (40). – С. 62-65.
3. **Морфофункціональні зміни стінок судин гемомікроциркуляторного русла на фоні діабетичних**

пародонтопатій (огляд літератури) / Пальтов С. В., Кривко Ю. Я., Фік В. Б. [та ін.] // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2008. – № 2. – С. 81-87.

4. **Metabolic** improvement of poorly controlled non-insulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover / R. Okazaki, J. Totsuka, K. Hamano [et al.] // J. Clin. Endocrinol. and Metab. – 1997. – V. 82, № 9. – P. 2915-2920.

5. **Нигматов Р. Н.** Исследование плотности костной ткани нижней челюсти у больных сахарным диабетом и диффузным токсическим зобом / Р. Н. Нигматов // Российский стоматологический журнал. – 2004. – № 4. – С. 29-31.

6. **Непорада К. С.** Патологічні зміни за поєднаної дії експериментальної виразки шлунка та цукрового діабету / К. С. Непорада, С. В. Давиденко // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 126.

7. **Гударьян А. А.** Состояние альвеолярной кости, показатели её метаболизма и кальций-фосфорного обмена у больных генерализованным пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом 1-го и 2- типа / А. А. Гударьян // Современная стоматология. – 2004. – № 1. – С. 69-72.

8. **Машенко И. С.** Иммунобиохимические механизмы развития различных клинических вариантов течения генерализованного пародонтита у больных сахарным диабетом 2 типа / И. С. Машенко, А. А. Гударьян // Украинский стоматологический альманах. – 2004. – № 1-2. – С. 31-34.

9. **Вербовая Н. И.** Минеральная плотность костной ткани и ее метаболизм при сахарном диабете II типа у больных старших возрастных групп / Н. И. Вербовая, О. В. Косарева // Клиническая геронтология. – 2003. – № 4. – С. 26-28.

10. **Поражение** костно-суставной системы у больных сахарным диабетом: диагностика и лечение / Н. И. Швец, Т. М. Бенца, Е. А. Фогель, О. А. Пастухова // Рациональная фармакотерапия. – 2008. – № 2 (07). – С. 60-65.

11. **High glucose** modulates P2X7 receptor-mediated function in human primary fibroblasts / A. Solini, P. Chiozzi, S. Falzoni [et al.] // Diabetologia. – 2000. – V. 43, № 3. – P. 1248-1256.

12. **Extracellular** glucose influence osteoblast differentiation and c-jun expression / M. Zayzafoon, C. Stell, R. Irwin, L. R. McCabe // J. Cell. Biochem. – 2000. – V. 79, № 2. – P. 301-310.

13. **Цисельський Ю. В.** Дисбіотичні аспекти патогенезу, профілактики і лікування діабетичної ретинопатії / Ю. В. Цисельський // Автореф. дис. ... доктора мед. наук. – Одеса, 2011. – 30 с.

14. **Левицкий А. П.** Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики / А. П. Левицкий, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 197 с.

15. **Экспериментальные** методы исследования стимуляторов остеогенеза: метод. рекомендации. / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.] – К.: ГФЦ, 2005. – 30 с.

16. **Ферментативный** метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков, Ю. В. Зеленина // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 3. – С. 17-21.

17. **Левицкий А. П.** Мука из виноградных листьев – источник витамина Р в комбикормах / А. П. Левицкий, В. Т. Гулаватский, И. В. Ходаков [и др.] // Зернові продукти і комбикорми – 2011. – № 1. – С.30-33.

Поступила 08.10.12



УДК 616.316+599.323.4:616-092.4

**И. К. Новицкая, к. мед. н., В. В. Витт**

Одесский Национальный Медицинский Университет

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОДНИЖНЕЧЕЛЮСТНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОСАЛИВАЦИИ

*Цель исследований состояла в изучении влияния метилметакрилата и длительной атропиновой нагрузки на изменение функции и морфологии слюнных желез.*

*При воспроизведении экспериментальной гипосаливации путем введения метилметакрилата определялось тотальное снижение функциональной активности эпителиоцитов желез, что проявляется отсутствием в цитоплазме вакуолей, выполненных секретиремым материалом. После атропиновой нагрузки наблюдалось интенсивное тотальное повышение функциональной активности эпителиоцитов железистых структур, что выражалось наличием в их цитоплазме вакуолей, выполненных секретом.*

**Ключевые слова:** слюнные железы, влияние метилметакрилата и атропина.

**И. К. Новицкая, В. В. Витт**

Одесский национальный медицинский университет

### ПАТОМОРФОЛОГИЧНІ ЗМІНИ ПІДНИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ПАЦЮКІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОСАЛІВАЦІЇ

*Ціль досліджень складалася у вивченні впливу метилметакрилату й тривалої атропинової навантаження на зміну функції й морфології слінних залоз.*

*При відтворенні експериментальної гіпосалівації шляхом введення метилметакрилату визначалося тотальне зниження функціональної активності епітеліоцитів залози, що проявляється відсутністю в цитоплазмі вакуолей, виконаних секретом. Після атропинової навантаження спостерігалася інтенсивне тотальне підвищення функціональної активності епітеліоцитів залозистих структур, що виражалося наявністю в їхній цитоплазмі вакуолей, виконаних секретом*

**Ключові слова:** слінні залози, вплив метилметакрилату й атропіну.

**I. K. Novitskaya., V.V. Vitt**

Odessa National Medical University

### PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES OF SUBMANDIBULAR SALIVARY GLANDS OF RATS IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPOSALIVATION

*The purpose of researches consisted of study of metilmetakrilat influencing and prolonged atropine loading to the change of function and morphology of salivary glands.*

*At reproducing of experimental hyposalivation by introduction of metilmetakrilat the total decline of functional activity of glandular epithelium. It was determined by absence of vacuoles in the cell cytoplasm. After the atropine loading there was an intensive total increase of functional activity of glandular epithelium. It was expressed by the presence of vacuoles with secret into their cytoplasm.*

**Keywords:** salivary glands, influencing of metilmetakrilat and atropine.

Большие слюнные железы построены из разных железистых или секреторных клеток, которые запрограммированы на синтез совершенно различных секретов. Околоушные железы имеют серозные (белковые) секреторные клетки и образуют белковосодержащий водянистый секрет; слюна из подъязычных желез - мукозная (слизеподобная) и поэтому более вязкая. В слюнной железе так же, как и в любом другом органе, существует структурно-функциональный комплекс, называемый функциональным элементом.

© Новицкая И. К., Витт В. В., 2012.