

ность каталазы под влиянием препарата ПФХв увеличивалась на 40,4 % ($p_1=0,03$) по сравнению с группой «Модель пародонтита» (табл. 3).

Заключение. Проведенные исследования показали, что препарат полифенолов из травы Хвоща полевого (ПФХв), применявшийся в условиях моделирования пародонтита с помощью экзогенной гиалуронидазы, в основном, оказал положительное влияние на метаболизм межклеточного матрикса соединительной ткани пародонта крыс. Препарат значительно, на 50 % увеличивал уровень гликозаминогликанов в кости альвеолярного отростка; улучшал состояние коллагена в десне крыс – уровень свободного оксипролина увеличивался на 148 %; общего оксипролина – на 45 %. В то же время препарат не в полной мере восстанавливал уровень гликопротеинов соединительной ткани.

Препарат проявил противовоспалительное действие – существенно снижал активность кистой фосфатазы в десне крыс. На фоне моделирования пародонтита препарат полифенолов из надземной части Хвоща полевого значительно снижал резорбцию костной ткани пародонта. Содержание цинка существенно увеличивалось в кости альвеолярного отростка, что является положительным фактом для нормального функционирования межклеточного матрикса пародонта.

Список литературы

1. Коломиец Н. Э. Сравнительное исследование химического состава видов рода Хвощ флоры Сибири. / Н. Коломиец, Г. Калинкина // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 149-154.
2. Коломиец Н. Э. Сравнительное химико-фармакологическое исследование растений рода Equisetum: автореф. дис. на соискательство науч. степени канд. мед. наук: спец. 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Н. Коломиец – Москва. – 2005. – 20 с.
3. Mimica-Dukic N. Phenolic compounds in field horsetail (Equisetum arvense L.) as natural antioxidants. / N. Mimica-Dukic, N. Simin, J. Cvejic, E. Jovin, D. Orcic, B. Bozin // Molecules. – 2008. – № 13. – P. 1455-1464.
4. Николаева А. В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф. дис. канд. мед. наук / А. Николаева – Харьков. – 1967. – 29 с.
5. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. / П. Шараев, В. Пешков, Н. Соловьева, Т. Широкова, Н. Зворыгина, А. Солопаев, Н. Алексеева // Лабораторное дело. – 1987. – № 5. – С. 330-332.
6. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. / П. Шараев. // Лабораторное дело. – 1981. – № 5. – С. 283-285.
7. Стальная И. Д. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – 1977. – Москва. — С.63-64.
8. Королук М. А. Метод определения активности каталазы / М. Королук, Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

Поступила 05.02.15



УДК (616.31+678.746.47-615.015.35):599.323.7

С. А. Шнайдер, д. мед. н., Е. К. Ткаченко, к. биол. н., М. А. Кузембаева

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПАРОДОНТА КРЫС

В опытах на 23-х белых крысах-самцах 1,5-мес. возраста изучено защитное действие препарата растительных полифенолов в тканях ротовой полости в условиях патогенного влияния экотоксиканта ДДЕ. С помощью ДДЕ была смоделирована экспериментальная патология пародонта. Препарат оказал нормализующее влияние на активность трансаминаз, процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови.

При локальном воздействии препарат ПФ4 снижал воспалительные явления в слизистой оболочке полости рта и резорбцию кости альвеолярного отростка в относительно короткие сроки эксперимента.

Ключевые слова: экотоксикант, экспериментальная патология пародонта, растительные полифенолы, слизистая оболочка полости рта, кость альвеолярного отростка.

С. А. Шнайдер, Є. К. Ткаченко, М. А. Кузембаєва

Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ЗАХИСНОЇ ДІЇ РОСЛИННИХ ПОЛІФЕНОЛІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ПАРОДОНТУ ЩУРІВ

В досліджах на 23-х білих щурах-самцях 1,5- міс. віку вивчена захисна дія препарату рослинних поліфенолів в тканинах ротової порожнини в умовах патогенного впливу екотоксиканту ДДЕ. За допомогою ДДЕ була змодельована експериментальна патологія пародонту. Препарат виявив нормалізуючий вплив на активність трансаміназ, процеси ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів в сироватці крові.

При локальній дії препарат ПФ4 знижував запальні явища в слизовій оболонці порожнини рота та резорбцію кістки альвеолярного відростку у відносно короткий період експерименту.

Ключові слова: *екотоксикант, експериментальна патологія пародонту, рослинні поліфеноли, слизова оболонка порожнини рота, кістка альвеолярного відростка.*

S. A. Shnaider, E. K. Tkachenko, M. A. Kuzembaeva

State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

THE MOLECULAR MECHANISMS OF THE PROTECTIVE ACTION OF PLANT POLYPHENOLS AT TOXIC DAMAGE OF PERIODONTAL OF RATS

In the experiments on 23 white male rats 1.5 months. age was investigated the protective action of the preparation of plant polyphenols in the tissues of the oral cavity in the conditions of the influence of pathogenic ecotoxicant DDE. With the help of DDE was modeled the experimental pathology of the periodontal. The preparation has a normalizing effect on the activity of transaminases, processes of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in the blood serum. Under the local effect of the preparation PF4 reduced the inflammatory phenomena in the oral mucosa and the resorption of the alveolar bone in a relatively short time of the experiment.

Keywords: *ecotoxicant, experimental periodontal pathology, plant polyphenols, oral mucosa, alveolar bone.*

В последнее время в окружающей среде возросло содержание экотоксикантов, к которым относятся и полихлорированные ароматические углеводороды, в т.ч. и ДДТ, ДДЕ и др. Эти соединения вызывают повреждения хромосом, часто проявляют митогенную активность.

Многие полифенолы (ПФ) пищи являются дублерами гормонов и гормональных регуляторов, а недостаточность их поступления является одной из причин снижения неспецифической резистентности организма и возникновения стоматологической патологии.

В природе ПФ, в основном, встречаются в высших растениях, чаще в виде гликозидов, реже агликонов [1]. Злаковые культуры – Пшеница мягкая (*Triticum aestivum*), Овес посевной (*Avena saliva* L.), Рожь посевная (*Secale cereale* L.) богаты ПФ, в частности, С-гликозидами. В траве Овса посевного содержатся углеводы, аминокислоты, стероидные соединения, витамины, флавоноиды [2]. В листьях пшеницы найдены трицин, лютеолин, апигенин, и их гликозиды – (изо)ориентин, (изо)витексин [3]. Трава Тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), издавна применяемая как пищевое растение у разных народов, обладает широким спектром фармакологической активности. Она содержит

органические кислоты, эфирные масла, дубильные вещества, алкалоиды, флавоноиды (до 3%) – кверцетин, апигенин, лютеолин, кемпферол, изорамнетин и их гликозиды [4].

Цель исследования. Изучение защитного действия комбинации растительных полифенолов в тканях ротовой полости крыс в условиях патогенного влияния экотоксиканта.

Материалы и методы. Опыты проведены на 23 белых крысах-самцах 1,5- мес. возраста. Крысы содержались на стандартном рационе виария. 1-ая группа – интактная (7 крыс). Во 2-ой группе (контроль) 8 крысам вводили per os раствор ДДЕ (2,2-Bis(7-chlorophenic)-2 dichloroethylene) (Acros organics USA), который является основным метаболитом ДДТ. ДДЕ вводили в дозе 3,5 мг / кг 5 раз в неделю. В 3-ей группе (8 крысам) вводили per os препарат ПФ4 в дозе 0,1мл/100 г массы тела крыс в течение 35 дней (контроль + ПФ4). Препарат ПФ4 – комбинация концентратов проростков злаковых (овса, пшеницы, ржи) и травы тысячелистника («Виола», Запорожье, Украина) в соотношении 2:1:1:1, получен по оригинальной лабораторной технологии [5]. Суммарное содержание ПФ в препарате ПФ4 – 5, 5 мг / 1 мл препарата (1 мл соответствует 1 г исходного сырья). Животных выводи-

ли из опыта путем тотального кровопускания из сердца, проводимого под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг). Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови и надосадочная жидкость гомогенатов, слизистой оболочки полости рта и кости альвеолярного отростка.

Биохимические показатели определяли унифицированными методами, используя коммерческие наборы реактивов: активность кислой фосфатазы (КФ) (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 20/45); активность щелочной фосфатазы (производства DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 44/100); содержание кальция (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 36/200); содержание фосфора (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 22/200). Для оценки состояния печени при ее токсическом поражении ДДЕ в сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) методом Райтмана-Френкеля.

Уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в тканях малонового диальдегида (МДА) [6]; определяли активность антиоксидантных ферментов: глутатион-редуктазы (ГР) [7], глутатионпероксидазы (ГПО) [8] и каталазы [9].

Выделенные челюсти подвергали морфометрическому исследованию [10]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критериев достоверности по Стьюденту.

Результаты исследования. Пероральное введение ДДЕ вызвало нарушение функциональной активности печени: активность АсАТ в сыворотке крови увеличивалась на 16 % ($p=0,05$): $1,41 \pm 0,84$ мккат/л против $1,22 \pm 0,046$ мккат/л в интактной группе. Активность АлАТ под действием токсиканта ($0,043 \pm 0,00022$ мккат/л) находилась на уровне интактной группы ($0,042 \pm 0,00063$ мккат/л).

Под влиянием ДДЕ процессы ПОЛ усиливались как на уровне организма, так и локально, в тканях ротовой полости крыс. Так, содержание МДА в сыворотке крови увеличивалось на 21,1 % (тенденция; $p = 0,10$): $2,30 \pm 0,21$ мкмоль/мл против $1,90 \pm 0,12$ мкмоль/мл в интактной группе. Наибольшее усиление процессов ПОЛ наблюдалось в кости альвеолярного отростка – уровень МДА усиливался на 30 % (тенденция; $p=0,10$): $7,35 \pm 0,53$ ммоль/г против $5,65 \pm 0,85$ мкмоль/г в интактной группе.

Под действием токсиканта в изученных объектах исследования изменялась активность антиоксидантных ферментов. Так, активность глутатион-редуктазы в сыворотке крови крыс снижалась на 34,3 % ($p=0,02$); активность глутатионпероксидазы – в 6,5 раз ($p<0,001$; табл. 1). В сли-

зистой оболочке полости рта и кости альвеолярного отростка активность глутатионпероксидазы под действием ДДЕ снижалась на 43 % ($p<0,001$) и на 12,8 % ($p=0,02$), соответственно. Активность каталазы в слизистой оболочке полости рта снижалась на 45,7 % ($p=0,016$) по сравнению с интактной группой. Увеличение активности каталазы в сыворотке крови и кости альвеолярного отростка связано, по-видимому, с усилением процессов ПОЛ в этих объектах исследования и носило индуктивный характер.

Об активации воспалительных явлений в слизистой оболочке полости рта свидетельствовало увеличение активности кислой фосфатазы в 3,7 раза (тенденция; $p = 0,09$): $5,50 \pm 2,08$ нмоль/с·г против $1,50 \pm 0,67$ нмоль/с·г в интактной группе. Введение ДДЕ вызвало увеличение активности кислой фосфатазы в кости альвеолярного отростка в 1,7 раза: $1,50 \pm 0,28$ нмоль/с·г ($p=0,06$) против $0,87 \pm 0,17$ нмоль/с·г в интактной группе, что говорит об активации остеокластов в костной ткани пародонта.

В условиях действия токсиканта в костной ткани пародонта нарушались процессы минерализации. Так, содержание Ca^{2+} снижалось на 39 % ($p=0,03$) по сравнению с интактной группой (табл. 1). ДДЕ усиливал резорбцию кости альвеолярного отростка на 22,5 % ($p=0,02$) на верхней челюсти и на 10,3 % ($p=0,016$) на нижней челюсти (от 100 % в интактных группах; табл. 2).

В дальнейших исследованиях было изучено влияние препарата ПФ4 на фоне перорально вводимого токсиканта ДДЕ.

Активность трансаминаз (активность АсАТ и АлАТ) в сыворотке крови под влиянием препарата ПФ4 приближалась к уровню их активности у интактных животных ($1,27 \pm 0,034$ мккат/л против $1,22 \pm 0,040$ мккат/л; $0,041 \pm 0,00023$ мккат/л против $0,042 \pm 0,00063$ мккат/л, соответственно), что свидетельствовало о противовоспалительных эффектах препарата.

Препарат нормализовал уровень МДА в сыворотке крови ($1,95 \pm 0,03$ мкмоль/мл) по сравнению с интактной группой: $1,90 \pm 0,12$ мкмоль/мл. Аналогичным образом изменялось содержание МДА под действием препарата в слизистой оболочке полости рта: $34,1 \pm 5,14$ мкмоль/г против $33,9 \pm 6,26$ мкмоль/г в интактной группе. В то же время препарат существенно не изменял содержание МДА в кости альвеолярного отростка: $7,61 \pm 0,28$ мкмоль/г против $7,35 \pm 0,53$ мкмоль/г в контрольной группе, получавшей токсикант ДДЕ. Под действием препарата ПФ4 в сыворотке крови активность каталазы и глутатионредуктазы нормализовалась (соответствовала их уровню в интактных группах; табл. 1). Актив-

ность ГПО в сыворотке крови под влиянием препарата увеличивалась в 7 раз ($p_1 < 0,001$) по сравнению с контрольной группой (введение ДДЕ); активность данного фермента увеличивалась в сыворотке крови на 8,4 % ($p < 0,001$) по сравнению с интактной группой (табл. 1). Препарат ПФ4 в слизистой оболочке полости рта увеличи-

вал активность каталазы в 1,6 раза ($p_1 = 0,04$); глутатион-редуктазы – на 20,3 % ($p_1 = 0,04$). Активность каталазы в кости альвеолярного отростка превышала таковую в интактной группе в 2,2 раза ($p = 0,008$); активность ГПО увеличивалась на 17,8 % (тенденция; $p_1 = 0,10$) относительно контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Влияние препарата ПФ4 на активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови и тканях ротовой полости крыс ($M \pm m$; p ; p_1)

Серии опытов	Объекты исследования		
	Сыворотка крови	Слизистая оболочка полости рта	Кость альвеолярного отростка
Каталаза (мкат/мл, мкат/г)			
Интактная	3,77±0,25	42,0±5,26	9,66±2,20
Контрольная (К)	4,55±0,19 $p = 0,02$	22,8±3,99 $p = 0,016$	17,0±2,55 $p = 0,05$
К+ПФ4	3,65±0,22	36,0±3,49 $p_1 = 0,04$	21,3±2,7 $p = 0,008$
ГР (нкат/мл, нкат/г)			
Интактная	0,067±0,0042	4,58±0,25	1,01±0,095
Контрольная (К)	0,044±0,0082 $p = 0,02$	4,19±0,14	1,33±0,15
К+ПФ4	0,060±0,0035 $p_1 = 0,09$	5,04±0,31 $p_1 = 0,04$	1,13±0,25
ГПО (мкат/мл, мкат/г)			
Интактная	22,7±0,25	96,0±0,87	89,3±3,51
Контрольная (К)	3,47±0,60 $p < 0,001$	54,8±6,35 $p < 0,001$	77,9±2,11 $p = 0,02$
К+ПФ4	24,6±0,31 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	78,4±21,9	91,8±8,07 $p_1 = 0,10$

Примечание: в табл. 1-2 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы; p_1 – контрольной.

Таблица 2

Влияние препарата ПФ4 на показатели резорбции и состояние минерального обмена костной ткани пародонта крыс ($M \pm m$; p ; p_1)

Показатели	Серия опыта		
	Интактная	Контрольная (К)	К+ПФ4
Резорбция кости альвеолярного отростка (%)			
Нижняя челюсть	29,1±0,68	32,1±0,82 $p = 0,016$	30,7±0,76 $p = 0,13$
Верхняя челюсть	20,4±0,69	25,0±1,56 $p = 0,02$	20,1±0,99 $p_1 = 0,02$
Минеральный обмен			
Активность ЩФ (нмоль/с·г)	2101±541	3167±560	3637±600 $p = 0,09$
Содержание Ca^{2+} (ммоль/г)	6,53±0,86	3,98±0,59 $p = 0,03$	6,32±0,73
Содержание P (ммоль/г)	2,51±1,77	3,86±2,13	3,34±2,06

Препарат ПФ4 недостоверно снижал активность кислой фосфатазы (рН 4,8) в кости альвеолярного отростка: 1,01±0,51 нмоль/с·г по сравнению с контрольной группой: 1,50±0,28 нмоль/с·г.

В слизистой оболочке полости рта активность данного фермента: 4,17±1,43 нмоль/с·г снижалась относительно контрольной группы: 5,50±2,08 нмоль/с·г, оставаясь на достаточно вы-

соком уровне по сравнению с интактной: $1,50 \pm 0,67$ нмоль/с·г, вероятно, в результате относительно непродолжительного срока воздействия препарата (35 дней).

Как видно из данных табл. 2, препарат повышал активность щелочной фосфатазы в 1,7 раза (тенденция; $p=0,09$) по сравнению с интактной группой.

Уровень фосфата существенно не изменялся, а содержание Ca^{2+} соответствовало таковому в интактной группе (табл. 2). Результатом улучшения минерального обмена и снижения активности кислой фосфатазы в костной ткани пародонта явилось частичное снижение резорбтивных процессов в кости пародонта – резорбция кости альвеолярного отростка достоверно снижалась на 19,6 % ($p_1=0,02$) только на верхней челюсти крыс (табл. 2).

Заключение. Проведенные исследования показали, что перорально вводимый экотоксикант усиливал воспалительные явления в сыворотке крови и тканях ротовой полости крыс. Действие ДДЕ выразилось в частичной инактивации ряда регуляторных белков и антиоксидантных ферментов в тканях ротовой полости. ДДЕ нарушал минеральный обмен и усиливал резорбцию костных структур пародонта крыс. Таким образом, с помощью ДДЕ, являющимся основным метаболитом ДДТ, была смоделирована экспериментальная патология пародонта.

Исследования в целом продемонстрировали системное нормализующее влияние препарата ПФ (флавоноидов и флавоногликозидов) на активность трансаминаз, процессы ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов – каталазы и ферментов обмена глутатиона в сыворотке крови. При локальном воздействии на ткани ротовой полости крыс препарат ПФ4 частично снижал воспалительные явления в слизистой оболочке полости рта и резорбцию кости альвеолярного отростка в относительно короткие сроки экспе-

римента.

Препарат растительных полифенолов нормализовал активность ферментов обмена глутатиона и процессы минерализации в костной ткани пародонта.

Список литературы

1. **Минаева В. Г.** Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование / Минаева В. Г. – «Наука». – 1978.
2. **Маршалкин М. Ф.** Определение содержания аминокислот и флавоноидов в траве овса посевного / М. Маршалкин, А. Саенко // Вопросы питания. – 2006. – №3. – с. 14-16.
3. **Estiarte M.** Free-air CO₂ enrichment of wheat: leaf flavanoid concentration throughout the growth cycle / M. Estiarte, J. Penuelas, B. A. Kimball // Physiologia Plantarum. – 1999. – Vol. 105. – p. 423-433.
4. **Малачевская А. С.** О фармакологическом действии тысячелистника / А. С. Малачевская // Фармакология и токсикология. – 1961. – №6. – с. 742-744.
5. **Ткаченко Е. К.** Разработка лабораторной технологии получения и количественное определение суммарного содержания ПФ в концентрате надземной части *Achillea Millefolium L.* / Е. К. Ткаченко, С. В. Носийчук. // Вісник стоматології. – 2009. – №2. – С. 82-85.
6. **Стальная И. Д.** Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – 1977. – Москва. – С.63-64.
7. **Путилина Е. Ф.** Определения активности глутатион-редуктазы / Путилина Е. Ф. // Методы биологических исследований. – М.: Ин.Лит. – 1982. – с. 181-183.
8. А. с. 922637 СССР3, 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.
9. **Королюк М. А.** Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18
10. **Николаева А. В.** Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей при раздражении верхнего шейного симпатического узла: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.00.21 «Стоматология» / А. В. Николаева – Харьков. – 1967. – 29 с.

Поступила 12.02.15

