

УДК (616.314.163-08.001.57+678.446.47):599.323.4

© К.Н. Косенко, Е.К. Ткаченко, Н.Г. Новосельская, 2012.

КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО МАТРИКСА ПАРОДОНТА КРЫС ПОЛИФЕНОЛАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРОДОНТИТА

К.Н. Косенко, Е.К. Ткаченко, Н.Г. Новосельская

ГУ «Институт стоматологии АМН Украины».

CORRECTION OF METABOLIC DISTURBANCE OF RAT'S PERIODONT EXTRACELLULAR MATRIX BY MEANS OF PLANT POLYPHENOLS UNDER CONDITIONS OF THE PERIODONTITIS MODELLING

K.N. Kosenko, E.K. Tkachenko, N.G. Novoselska

SUMMARY

In experiments on 22 white 1.5-month-old rats-males there were studied protective influence of polyphenols of *Achillea millefolium* L on periodont's extracellular matrix. Preparation plant polyphenols increased the content of oxuprolin in gingiva and the content glycosaminoglycans in the periodont tissue under conditions of the periodontitis modelling, which was induced by simultaneous intromission of varfarin (an antagonist of vitamin K) and cuprenyl (complex-make pollutant).

КОРЕКЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ СПОЛУЧНОТКАНИННОГО МАТРИКСУ ПАРОДОНТУ ЩУРІВ ПОЛІФЕНОЛАМИ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ

К.М. Косенко, Є.К. Ткаченко, Н.Г. Новосельська

РЕЗЮМЕ

В досліджах на 22 білих щурах 1,5-міс. віку вивчена захисна дія препарату поліфенолів трави деревію відносно СТМ пародонту. Препарат ПФТ підвищував вміст оксипроліну в яснах та глікозаміногліканів в тканинах пародонту щурів в умовах моделювання пародонтиту, який відтворювали сумарним введенням антагоністу вітаміну К – варфарину та комплексоутворюючого ксенобіотика – купренілу.

Ключевые слова: растительные полифенолы, соединительнотканый матрикс, модель пародонтита, ткани пародонта.

Пародонтит сопровождается деструктивными изменениями в соединительно-тканном матриксе (СТМ) десны и кости альвеолярного отростка. Основными компонентами СТМ пародонта являются фибриллярные белки (коллагены, эластины) и полисахариды – (гликозаминогликаны (ГАГ), гликопротеины). Нормальное функционирование СТМ осуществляется в результате действия целого ряда витаминов, в т.ч. и витамина К, влияние которого опосредуется через мембраны и изменением метаболизма витамина D, рецепцией его активных метаболитов [5].

Для моделирования пародонтита у крыс нами были избраны варфарин и купренил (D-пеницилламин). Варфарин – антагонист витамина К, антикоагулянт непрямого действия, блокирующий синтез викасол-зависимых факторов свертывания крови в печени, а именно: факторов II, VII, IX и X. Оказывает эффект медленно, обладает кумулятивными свойствами. По структуре купренил представляет собой часть молекулы пенициллина и диметильное производное аминокислоты цистеина. Основным свойством купренила является его высокая комплексообразующая активность в отношении ионов металлов: меди, ртути, свинца, железа, а также кальция. Все вышеизложенное

предопределило использование этих веществ при моделировании нарушений метаболизма СТМ пародонта у крыс. В ряду веществ, поддерживающих физиологическое состояние регуляторных систем жизнедеятельности клетки, важная роль в последнее время отводится растительным полифенолам (ПФ). Благодаря уникальному содержанию ценных органических соединений, в т.ч. и ПФ, особый интерес вызывает трава Тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), которая содержит флавоноиды (около 3%), витамин С, К, а также минеральные элементы – К, Са, Mg, Na и др. [10].

Цель исследования – изучение влияния ПФ травы тысячелистника (препарата ПФТ) на СТМ пародонта крыс в условиях воспроизведения экспериментального пародонтита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили 22 белых крыс-самцов линии Вистар 1,5-мес. возраста. Интактную группу составили 6 особей (I группа). Во 2-й группе 8 крыс получали per os варфарин («Никомед Дания АпС») в дозе 10 мг/кг массы тела 3 раза в неделю, с питьевой водой крысы этой группы получали купренил («АГ ТЕВА», Польша) в дозе 20 мг/кг массы тела крыс 7 дней в неделю. На фоне суммарного

введения варфарина и купренила изучали влияние препарата ПФТ, вводимого в дозе 0,1 мл/100г массы тела (3-я группа – 8 крыс). Препарат ПФ травы Тысячелистника обыкновенного («Виола», Украина) (ПФТ) получен по оригинальной лабораторной технологии [7]. Сумма ПФ в препарате ПФТ – 5,02 мг/г исходного сырья. Длительность эксперимента составила 55 дней. Крыс выводили из опыта путем тотального кровопускания из сердца (тиопентал натрия, 40 мг/кг). Предварительно отделив десну и слизистую оболочку щеки (СОЩ), вычленили челюсти и подвергали их морфометрическому исследованию [3]. Объектами исследований служили сыворотка крови, гомогенаты печени, десны, СОЩ и кости альвеолярного отростка. Состояние СТМ оценивали по уровню коллагена (содержание оксипролина) в десне [9], гликозаминогликанов (ГАГ) в тканях пародонта [8]. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) [6]. В тканях пародонта определяли активность каталазы [1] и глутатион-редуктазы (ГР) [4]. В СОЩ и тканях пародонта определяли активность кислой фосфатазы (КФ) [2]. Состояние минерального обмена в кости пародонта определяли по активности щелочной фосфатазы (ЩФ) (DAS – сер.35/100), содержанию кальция (DAS – сер. 18/200) и фосфора (DAS – сер. 20/200) унифицированными методами, используя коммерческие наборы реактивов.

Результаты экспериментов обрабатывали общепринятыми методами с определением критериев достоверности различий по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под действием суммарно вводимых варфарина и купренила значительно увеличивалась резорбция кости пародонта крыс: на нижней челюсти - на 27,4%: $39,1 \pm 0,8\%$ против $30,7 \pm 1,5\%$ в интактной группе ($p < 0,001$); на верхней – на 23,9%: $27,5 \pm 0,8\%$ против $22,2 \pm 0,9\%$ ($p = 0,02$) (100% в интактных группах). При моделировании пародонтита содержание свободного оксипролина в десне снижалось в 5,3 раза ($p = 0,002$), а связанного – в 3,1 раза ($p = 0,014$) по сравнению с данными интактных групп (табл.1). Уровень общего оксипролина при этом снижился в 3,4 раза ($p < 0,001$) (табл.1). Содержание ГАГ в тканях пародонта имело тенденцию к снижению (табл.1). Моделирование пародонтита вызвало двукратное увеличение активности провоспалительного фермента – КФ в СОЩ: $2,19 \pm 0,40$ ммоль/г против $1,08 \pm 0,20$ ммоль/г в интактной группе ($p = 0,04$); и в 2,5 раза – в десне: $8,82 \pm 0,17$ ммоль/г против $3,51 \pm 1,27$ ммоль/г ($p = 0,004$). В кости пародонта активность КФ увеличивалась в 3 раза: $3,08 \pm 0,60$ ммоль/г против $1,01 \pm 0,45$ ммоль/г в интактной группе ($p = 0,02$). В костной ткани КФ – маркерный фермент действия остеокластов. Таким образом, наибольшая активация КФ выявлена в десне и кости пародонта крыс.

При моделировании пародонтита усиливались процессы ПОЛ: содержание МДА увеличилось в печени на 40% ($p = 0,001$; табл.2). Уровень МДА в СОЩ и кости альвеолярного отростка увеличивался в 3,6 раза ($p = 0,05$ и $0,001$; табл.2).

О недостаточном функционировании антиоксидантной системы в тканях пародонта

Таблица 1

Влияние препарата ПФТ на состояние СТМ пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m; p, p₁)

Группы животных	Содержание				
	Оксипролин десны (ммоль/г)			ГАГ (мг/г)	
	свободный	связанный	общий	десна	кость альвеолярного отростка
Интактная	4,68±0,67	4,76±0,87	8,19±0,68	6,76±0,004	21,1±0,41
Модель (В+К)	0,89±0,11 p=0,002	1,52±0,12 p=0,014	2,40±0,00 p<0,001	5,00±1,45	18,9±5,95
Модель +ПФТ	1,84±0,037 p ₁ =0,001	3,72±0,28 p ₁ <0,001	5,13±0,20 p ₁ <0,001	7,53±1,16	51,0±15,4 p ₁ =0,08

Примечание. в табл. 1-3 показатель достоверности p ($p \leq 0,05$) рассчитан относительно интактной группы; p_1 – относительно контрольной группы (модель пародонтита)

свидетельствовало снижение активности каталазы в десне на 13,6%; в кости пародонта – на 18,8%. Активность ГР в десне снижалась на 16,2% (табл.2).

На фоне экспериментального пародонтита изучали действие препарата ПФТ. Под влиянием препарата содержание свободного оксипролина в

десне увеличивалось вдвое ($p_1 = 0,001$), а связанного – в 2,4 раза ($p_1 = 0,001$; табл.1). Содержание общего оксипролина увеличивалось в 2,1 раза ($p_1 < 0,001$) по сравнению с контрольной группой (модель пародонтита). Уровень ГАГ в кости пародонта увеличивался в 2,7 раза ($p = 0,08$) относительно

Таблица 2

Влияние препарата ПФТ на содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в тканях ротовой полости крыс в условиях моделирования пародонтита ($M \pm m$; p , p_1)

Группы животных	Содержание МДА (нмоль/г)				Активность ферментов			
					Каталаза (мкат/г)		ГР (мкмоль/с·г)	
	печень	СОЩ	десна	кость альвеолярного отростка	десна	кость альвеолярного отростка	десна	кость альвеолярного отростка
Интактная	95,0± 6,79	3,08± 0,45	19,3± 2,24	5,70± 0,60	33,1± 1,16	9,30± 0,90	6,22± 0,99	2,42± 0,39
Модель (В+К)	133± 2,42 $p=0,001$	11,0± 3,20 $p=0,05$	16,1± 0,000	20,7± 2,97 $p=0,001$	28,6± 1,16	7,55± 1,52	5,21± 0,43	2,69± 0,41
Модель+ПФТ	111± 4,07 $p_1=0,011$	4,24± 0,56 $p_1=0,07$	13,1± 3,13	8,32± 1,08 $p_1=0,005$	23,1± 6,10	15,8± 3,53 $p_1=0,06$	5,41± 0,39	3,88± 0,30 $p_1=0,04$

контрольной группы и в 2,4 раза по сравнению с интактной (табл.1). Препарат существенно снижал резорбцию костной ткани пародонта: на нижней челюсти – на 19,7%: 31,4±2,7% против 39,1±0,8% в контрольной группе ($p_1=0,02$), на верхней – 14,5%: 23,5±1,7 против 27,5±0,8% ($p_1=0,06$) (100% в контрольной группе). О снижении воспалительных явлений в тканях ротовой полости под действием препарата ПФТ свидетельствовало снижение активности лизосомального фермента КФ – в 2,4 раза в СОЩ: 0,90±0,10 ммоль/г против 2,19±0,40 ммоль/г в контрольной группе ($p_1=0,02$); в десне - в 1,4 раза: 6,48±0,35 ммоль/г против 8,82±0,17 ммоль/г ($p_1<0,001$). Активность КФ в костной ткани пародонта достоверно не изменялась относительно контрольной группы:

2,70±0,63 ммоль/г против 3,08±0,60 ммоль/г. Косвенно о снижении воспалительных явлений в тканях ротовой полости говорит значительное (в 2,5 раза) снижение содержания МДА в кости пародонта ($p_1=0,005$) и СОЩ ($p_1=0,008$), а также некоторое снижение уровня этого показателя в десне крыс относительно контрольной группы (табл.2). О проявлении антиоксидантных свойств препарата ПФТ на уровне организма свидетельствовало существенное снижение содержания МДА в печени крыс ($p_1=0,011$). Препарат ПФТ в условиях моделирования пародонтита вызвал в костной ткани пародонта двукратное увеличение активности каталазы ($p_1=0,06$); активность ГР увеличивалась на 44,2% ($p_1=0,04$). Активность этих ферментов в костной ткани пародонта превышала данные интактных групп (табл.2).

Таблица 3

Влияние препарата ПФТ на показатели минерального обмена в в костной ткани пародонта крыс в условиях моделирования пародонтита ($M \pm m$; p , p_1)

Группы животных	Активность ЩФ (нмоль/г)	Содержание	
		Са (ммоль/г)	Р (ммоль/г)
Интактная	0,17±0,035	0,023±0,0038	0,0059±0,0013
Модель (В+К)	0,14±0,049	0,020±0,0058	0,010±0,0013 $p=0,05$
Модель+ПФТ	0,53±0,086 $p=0,006$ $p_1=0,006$	0,048±0,0013 $p<0,001$ $p_1=0,05$	0,014±0,0021 $p=0,008$

Под действием препарата ПФТ значительно улучшалось состояние минерального обмена в костных структурах пародонта (табл.3). Так, препарат увеличивал активность ЩФ в 3,8 раза ($p_1=0,006$), содержание ионов Ca^{2+} - в 2,4 раза ($p_1=0,05$) по

сравнению с контрольной группой. Известно, что ЩФ – маркерный фермент действия остеобластов в костной ткани. Изученные показатели существенно увеличивались по сравнению с данными интактных групп.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование пародонтита вызвало деградацию СТМ пародонта, выразившуюся в значительном снижении содержания оксипролина в десне, ГАГ – в кости пародонта крыс.

2. Об усилении катаболических процессов в костных структурах пародонта свидетельствовало усиление резорбции кости альвеолярного отростка, согласующееся с активацией маркерного фермента остеокластов – кислой фосфатазы.

3. Препарат ПФТ в условиях моделирования пародонтита проявил пародонтопротекторные свойства – восстанавливал СТМ пародонта; уменьшал в десне воспалительные явления; улучшал минеральный обмен и снижал уровень резорбтивных процессов в костных структурах пародонта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

2. Левицкий А.П. Сравнительная оценка трёх методов определения активности фосфатаз слюны человека / А. Левицкий, А. Марченко, Т. Рыбак // Лаб. дело. – 1972. – №10. – С. 624-625.

3. 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. – 29с.

4. Путилина Е.Ф. Определения активности глутатион-редуктазы / Е. Путилина // Методы биохимических исследований. – М.: Ин. Лит. – 1982. – С.181-183.

5. Сокольников А.А. Функциональная роль витамина К / А.Сокольников, В. Коденцова // Вопр. мед. химии. – 1999. – Т. 45. – С. 453-461.

6. 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. Ткаченко Е.К. Разработка лабораторной технологии получения и количественное определение суммарного содержания ПФ в концентрате надземной части *Achillea millefolium* L. / Е. Ткаченко, С. Носийчук. // Вісник стоматології. – 2009. – №2. – С. 82-85.

8. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. / Шараев П., В. Пишков и др. // Лаб. дело. – 1987. – 5. – С. 330-332.

9. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. / П. Шараев // Лаб. дело. – 1981. – 5. – С. 283-285.

10. Шаталина Н.В. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве Тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) / Н. Шаталина, Г. Первышина, А. Ефремов и др. // Химия растительного сырья. – 2002. – № 3. – С. 13-16.