

УДК (616.311.2+616.314.7-008.1-02-035.2):599.323.4

**А. В. Николаева, к. мед. н.**Государственное учреждение «Институт стоматологии  
Национальной академии медицинских наук Украины»**ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕТЫ ПРЕПАРАТОВ ПОЛИФЕНОЛОВ  
РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИ ПАРОДОНТА**

*В опытах на 33 белых крысах-самцах 1,5-мес. возраста изучены защитные эффекты препаратов растительных полифенолов – кверцетина и ПФЗ в условиях действия фенигидина и алиментарной полифенольной недостаточности. Препараты ПФЗ и кверцетин оказали нормализующее защитное действие, выразившееся в активации антиоксидантных ферментов в сыворотке крови, и локально – в слизистой оболочке полости рта, причем в большей степени под действием кверцетина. По данным цитоморфологических исследований кверцетин более значительно снижал в эпителиальном пласте глубину эрозий. Положительное влияние препарата ПФЗ на слизистую оболочку полости рта крыс уступало аналогичному действию кверцетина.*

**Ключевые слова:** фенигидин, бесполифенольный рацион, растительные полифенолы, кверцетин, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, защитное действие, слизистая оболочка полости рта, цитоморфологические исследования.

**Г. В. Ніколаєва**Державна установа «Інститут стоматології  
Національної академії медичних наук України»**ЗАХИСНІ ЕФЕКТИ ПРЕПАРАТІВ ПОЛІФЕНОЛІВ  
РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ  
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ ПАРОДОНТУ**

*В дослідях на 33 білих щурах-самцях 1,5-міс. віку вивчені захисні ефекти препаратів рослинних поліфенолів – кверцетину і ПФЗ в умовах дії фенігідіну та аліментарної поліфенольної недостатності. Препарати ПФЗ і кверцетин виявили нормалізуючу захисну дію, виявлену в активації антиоксидантних ферментів в сироватці крові, а також локально – в слизовій оболонці порожнини рота, причому в більшому ступені під впливом кверцетину. За даними цитоморфологічних досліджень кверцетин більш значно знижував в епітеліальному пласті глибину ерозії. Позитивний вплив препарату ПФЗ на слизову оболонку порожнини рота щурів поступалося аналогічній дії кверцетину.*

**Ключові слова:** фенігідін, бесполіфенольний раціон, рослинні поліфеноли, кверцетин, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантні ферменти, захисна дія, слизова оболонка порожнини рота, цитоморфологічні дослідження.

**A. V. Nikolaeva**State Establishment “The Institute of Stomatology  
of the National academy of medical science of Ukraine”**THE PROTECTIVE EFFECTS OF THE PREPARATIONS  
WITH VEGETATIVE POLYPHENOLS  
AT UNDER EXPERIMENTAL PATHOLOGY OF PERIODONTITIS**

*At the experiments with 33 white he-rats of 1.5 months old the protective effects of the preparations of vegetative polyphenols – quercethin and PP3 at the influence with phenyhydinum and alimentary polyphenol insufficiency were studied.*

*According to the data of biochemical studies the diet without polyphenols and in greater degree phenyhydinum at alimentary polyphenol insufficiency (system influence), has caused the partial inactivation of certain protective albumen-enzymes in blood serum and locally in oral mucous membrane. Besides, the inductor of gum hyperplasia combined with polyphenol insufficiency has caused resorption of periodontal osseous tissue.*

*The preparations of PP3 and quercethin have displayed the normalizing protective effect, expressed in activation of antioxidant enzymes in blood serum and locally in oral mucous membrane as well, at that mostly under the influence of quercethin. The preparations of vegetative polyphenols have reduced considerably the depth of erosions in the epithelial layer of oral mucous membrane; the coefficient of epithelial erosions twice as shortened. The degree of vacuolar dystrophy at quercethin influence was less expressed, than at the one with the preparation of PP3.*

*So, the positive influence of PP3 on oral mucous membrane of rats was worse than the same affection with quercethin.*

**Key words:** *phenyhydinum, polyphenol-free diet, vegetative polyphenols, quercethin, lipids peroxide oxidation, antioxidant enzymes, protective effect, oral mucous membrane, cytomorphological studies.*

Известно, что некоторые ксенобиотики лекарственной природы вызывают побочное действие в тканях ротовой полости. Так, среди побочных эффектов антиангинального средства фенигидина (нифедипина) определяют гиперплазию десен.

В последнее время уже не вызывают сомнений данные о биологической активности и лечебных свойствах растительных полифенолов (ПФ), об их облигантой функции как пищевых факторов. В свою очередь, от ПФ пищи может зависеть резистентность тканей ротовой полости к повреждающим агентам, а их недостаточность может приводить к развитию стоматологической патологии.

**Цель настоящего исследования.** Изучение заместительных защитных эффектов препаратов растительных ПФ – кверцетина и ПФЗ в условиях действия индуктора гиперплазии десны – фенигидина и алиментарной полифенольной недостаточности.

**Материалы и методы.** Белые крысы в количестве 33 особей-самцов были взяты в опыт в 1,5-мес. возрасте. 5 крыс содержались на общем рационе вивария (ДВ); 28 крыс – на бесполифенольном рационе (БПР) [1]. Рацион включал: пшеничную муку в.с. – 15 %, обезжиренное сухое молоко – 25 %, картофельный крахмал – 35 %, маргарин как источник жиров – 1,2 %, целлюлоза (фильтровальная бумага) – 5 %, смесь солей – 5 %, дрожжи сухие как источник витаминов группы В – 1,5%, витамины А – 20 000 ЕД/1кг и D<sub>2</sub> – 2000 ЕД на 1 кг корма.

В 2-й группе 7 крыс содержались на БПР. Крысы 3-ей (7 крыс) получали *per os* суспензию фенигидина (ФН) (производного 1,4-дигидропиримидина) в дозе 5 мг/кг массы тела крыс (производства ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Харьков, Украина) и содержались на рационе, лишенном ПФ (БПР+ФН). Крысы 4-й и 5-й групп (по 7 особей) получали, соответственно кверцетин (КВ) (производства Борщаговского ХФЗ, Украина) и препарат ПФЗ (рабочее название). Препарат ПФ листов пшеницы, проростков овса и надземной части тысячелистника в соотношении 2:1:1, получен по оригинальной лабораторной технологии [2]. Сумма флавоноидов в препарате ПФЗ составляла 19 мг/100 исходного сырья. Действие обоих препаратов изучали при сочетанном влиянии перорального введения ФН и БПР. КВ вводили в дозе 25 мг/кг массы тела крыс, препарат

ПФЗ – по 0,1 мл/100 г массы. Препараты вводили *per os* 5 раз в неделю в протяжении 70 дней.

По завершению экспериментов крыс выводили из опытов путем тотального кровопускания из сердца, проводимого под наркозом (тиопентал натрия 40 мг/кг). Предварительно отделив десну и слизистую оболочку щеки, вычленили верхние и нижние челюсти.

Выделенные челюсти крыс подвергались морфометрическому исследованию. Степень резорбции кости альвеолярных отростков нижней и верхней челюстей крыс оценивали методом А.В. Николаевой [2].

Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови, печень (50 мг/мл), надосадочная жидкость гомогенатов десны и слизистой оболочки щеки (25 мг/мл). Надосадочную жидкость получали путем центрифугирования в центрифуге РС-6 в течение 15 минут при 3000 об/мин при температуре +4°C.

Уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) тиобарбитуровым методом [3]. Состояние физиологической антиоксидантной системы (ФАС) оценивали по активности глутатионредуктазы (ГР) [4], глутатион-пероксидазы (ГПО) [5], каталазы [6].

После выведения животных из опыта у них иссекали фрагменты слизистой оболочки щеки, фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной около 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также обрабатывали по Эйнарсону [7, 8]. Полученные препараты использовали для обзорных морфологических и морфометрических исследований. При малом увеличении микроскопа определяли коэффициент эрозии эпителия (КЭЭ). Для этого измеряли с помощью окулярного микрометра протяженность участков наружного повреждения эпителиального слоя и определяли, какую долю составляла зона повреждения по отношению к протяженности всего эпителия (в усл. ед.). Это позволяло оценивать состояние эпителия в целом.

Для оценки реакции соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки щеки, используя стереометрические подходы, рассчитывали коэффициент стеноза сосудов (КСС). Для этого определяли, какую часть (в усл. ед.) составляла площадь стенки сосуда микроциркуляторного русла к площади его просвета. Этот показатель объективно характеризовал направ-

ленность сосудистой реакции и степень её выраженности.

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

**Результаты исследования.** Содержание крыс в продолжении 70 дней на рационе, лишённом алиментарных ПФ, вызвало тенденции увеличения содержания МДА в печени в 2,5 раза:  $42,2 \pm 12,5$  мкмоль/г по сравнению с интактной группой:  $17,1 \pm 8,22$  мкмоль/г, что свидетельствовало об усилении процессов ПОЛ. В сыворотке крови значительно снижалась активность глутатион-пероксидазы (табл. 1). В слизистой оболочке полости рта бесполифенольный рацион снижал активность данного фермента в 1,8 раза ( $p=0,02$ ); активность каталазы снижалась в 2,2 раза ( $p=0,06$ ; табл. 1). В слизистой оболочке полости рта под действием БПР активации ПОЛ выявлено не было.

Пероральное введение крысам фенигидина проводили при содержании крыс на диете, лишённой алиментарных ПФ (БПР). Фенигидин в

условиях БПР усиливал в сыворотке крови перекисные процессы – содержание МДА увеличивалось в 3,2 раза:  $1,71 \pm 0,95$  мкмоль/л против  $0,53 \pm 0,04$  мкмоль/л в контрольной группе (БПР) (тенденции). Активность каталазы и глутатион-редуктазы в данном объекте исследования снижалась в 2,1 ( $p<0,001$ ) и в 2,5 раза ( $p=0,001$ ), соответственно (табл. 1). Фенигидин вызвал индуктивное увеличение активности глутатион-пероксидазы, вследствие усиления в сыворотке крови перекисных процессов.

Под действием фенигидина на фоне ПФ недостаточности достоверного увеличения процессов ПОЛ выявлено не было. В то же время в десне в 5,0 раз снижалась активность глутатион-пероксидазы по сравнению с группой БПР (табл. 1). Фенигидин на фоне бесполифенольного рациона усиливал резорбцию кости альвеолярного отростка верхней челюсти крыс на 13,8 % (от 100 % в группе БПР):  $24,7 \pm 0,5$  % против  $21,7 \pm 1,2$  % в контрольной группе ( $p=0,04$ ). Изменения резорбции костной ткани пародонта на нижней челюсти носили недостоверный характер.

Таблица 1

**Активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови и слизистой оболочке полости рта крыс ( $M \pm m$ ;  $p$ ;  $p_1$ )**

Группы животных	Активность		
	каталаза, (мкат/л, мкат/г)	ГПО, (мкат/мл, мкат/г)	ГР, (нкат/мл, нкат/г)
сыворотка крови			
ДВ	$2,93 \pm 0,051$	$2,67 \pm 0,87$	$0,040 \pm 0,0063$
БПР	$2,77 \pm 0,15$	$0,22 \pm 0,14$ $p=0,016$	$0,071 \pm 0,0085$
БПР+ФН	$1,34 \pm 0,26$ $p<0,001$	$1,44 \pm 0,52$ $p=0,04$	$0,028 \pm 0,0038$ $p=0,001$
БПР+ФН+КВ	$2,95 \pm 0,14$ $p_1<0,001$	$0,91 \pm 0,38$	$0,043 \pm 0,0027$
БПР+ФН+ПФ3	$1,57 \pm 0,41$	$3,15 \pm 0,48$ $p_1=0,04$	$0,029 \pm 0,0058$
слизистая оболочка щеки			
ДВ	$58,2 \pm 13,2$	$61,9 \pm 7,32$	$4,38 \pm 0,023$
БПР	$27,0 \pm 6,39$ $p=0,06$	$34,8 \pm 7,56$ $p=0,02$	$3,58 \pm 0,57$
БПР+ФН	$30,9 \pm 5,16$	-	$2,92 \pm 0,37$
БПР+ФН+КВ	$32,4 \pm 5,49$	$31,5 \pm 13,8$	$3,43 \pm 0,45$
БПР+ФН+ПФ3	$35,9 \pm 8,14$	$52,0 \pm 12,5$	$2,78 \pm 0,39$
десна			
ДВ	$24,0 \pm 1,74$	$55,0 \pm 10,9$	-
БПР	$27,0 \pm 6,39$	$83,2 \pm 19,6$	
БПР+ФН	$35,6 \pm 8,34$	$16,7 \pm 3,22$ $p=0,008$	
БПР+ФН+КВ	$35,6 \pm 7,87$	$81,2 \pm 21,3$ $p_1=0,013$	
БПР+ФН+ПФ3	$37,3 \pm 5,88$	$40,3 \pm 1,45$ $p_1<0,001$	

*Примечание:* в табл. 1 и 2 показатель достоверности  $p$  рассчитан относительно группы ДВ,  $p_1$  – относительно группы БПР+ФН

**Коэффициент эрозии эпителия и коэффициент стеноза сосудов микроциркуляторного русла слизистой оболочки щеки крыс под влиянием препаратов растительных полифенолов ( $M \pm m$ ;  $p$ ;  $p_1$ )**

Группы животных	Эпителий поврежденный Эпителий исследованный (КЭЭ) (усл.ед.)	Коэффициент стеноза сосудов (КСС) (усл. ед.)
ДВ	0,06±0,010	3,1±0,32
БПР+ФН	0,24±0,05 $p=0,018$	1,8±0,42 $p=0,05$
БПР+ФН+КВ	0,10±0,03 $p_1=0,05$	2,9±0,36 $p_1=0,10$
БПР+ФН+ПФ3	0,12±0,04 $p_1=0,11$	2,7±0,40

На фоне перорального введения фенигидина у крыс с полифенольной недостаточностью были изучены защитные эффекты препаратов растительных ПФ – кверцетина и препарата ПФ3. Исследования показали, что оба препарата в данных экспериментальных условия существенно не повлияли на процессы ПОЛ в слизистой оболочке полости рта крыс; в сыворотке крови кверцетин несколько снижал содержание МДА по сравнению с контрольной группой (БПР+ФН):  $0,53 \pm 0,04$  мкат/л против  $1,71 \pm 0,95$  мкат/л.

В то же время в сыворотке крови кверцетин в условиях действия фенигидина и бесполифенольного рациона существенно увеличивал активность антиоксидантных ферментов: каталазы – в 2,2 раза ( $p_1 < 0,001$ ), глутатион-редуктазы – в 1,5 раза ( $p_1 = 0,008$ ). Препарат ПФ3 увеличивал активность глутатион-пероксидазы в 2,2 раза ( $p_1 = 0,04$ ; табл. 1).

Под влиянием препарата ПФ3 в десне активность глутатион-пероксидазы увеличивалась в 2,4 раза ( $p_1 < 0,001$ ); кверцетин активировал глутатион-пероксидазу более значительно – в 4,9 раза ( $p_1 = 0,013$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Рассмотрим результаты цитоморфологических исследований слизистой оболочки щеки по оценке действия препаратов растительных ПФ.

В группе крыс, получавших кверцетин на фоне фенигидина и полифенольной недостаточности (БПР+ФН+КВ), картина реакции тканей слизистой оболочки имела свои особенности. Так, в эпителиальном пласте расслоение и эрозия поверхностных слоев встречались реже, чем в контрольной группе (БПР+ФН), но чаще, чем в группе интактных крыс (ДВ). Глубина эрозий была меньшей и практически не выходила за пределы ороговевающих слоев. Характерно при этом существенное уменьшение значения КЭЭ (в 2,4 раза;  $p_1 = 0,05$ ) относительно группы БПР+ФН

(табл. 2). В целом, эти показатели приближались к таковым в группе интактных животных (ДВ).

В ростковой зоне встречались очаги явления вакуолярной дистрофии и проявлялись в меньшей степени, чем в группе БПР+ФН. Патологические формы митозов практически не встречались.

Соединительная ткань собственной пластинки вклинивалась в эпителий относительно широкими и невысокими сосочками. Отечность собственной пластинки проявлялась очагово и за счет этого ее слой выглядел более тонким. Сосуды были расширены меньше, чем в группе БПР+ФН, что подтверждается и тенденцией нормализации КСС (табл. 2).

Общая картина тканей слизистой оболочки полости рта в этой группе внешне соответствовала таковой в группе интактных крыс. Таким образом, можно констатировать, что кверцетин существенно снижал эффект раздражающего действия бесполифенольного рациона и, частично, фенигидина.

При использовании препарата ПФ3 на фоне фенигидина и алиментарной ПФ недостаточности (БПР+ФН+ПФ3), в целом, отмечалась та же динамика изменений в эпителии и в собственной пластинке слизистой, как в группе с кверцетином (БПР+ФН+КВ). В эпителиальном пласте реже, чем в контрольной группе (БПР+ФН) встречались эрозии и расслоение ороговевающих слоев. Эрозии были обычно поверхностными и практически никогда не захватывали всю ороговевающую зону. При этом участки эпителия со следами нарушения структуры соседствовали с внешне практически неизменными его участками. Подтверждением установленного факта нормализации могут служить изменения коэффициента эрозии эпителия (КЭЭ) (табл. 2). Так, КЭЭ существенно снизился (в 2 раза;  $p_1 = 0,11$ ) по сравнению с контрольной группой и приблизился к та-

ковому в інтактній, що виглядало вповне естесвенним на фоні кращої сохранныости наружної зони епітєліального пласта.

В окремих участках росткової зони зустрічались очаги дистрофічески измененных клеток разного размера. Однак, степен ь розвитку вакуолярної дистрофії і степен ь проявленн ь дистрофічески измененн ь – вакуолізація цитоплазми, ущільнення і сморщивання ядра, збільшення общих розмірів клеток – виражен ь значительной менше, чем в контрольной группе (БПР+ФН), но более существенно, чем в группе кверцетина (БПР+ФН+КВ).

Собственная пластинка внешне выглядела менее измененной, чем в контрольной группе. Не было выявлено глубоко вдающихся в эпителий разветвленных сосочков. Сосуды расширены умеренно, стенки их незначительно утолщены, что подтверждается тенденцией приближения КСС к его значениям в интактной группе (ДВ) (табл. 2). Отечность соединительной ткани имела место, но проявлялась очагово и была выражена несколько больше, чем при использовании кверцетина. Клетки соединительной ткани были распределены сравнительно равномерно, практически не наблюдалось участков инфильтрации лейкоцитами. Картина волокнистых структур мало отличалась от таковой у интактных животных (ДВ).

**Заключение.** Таким образом, по данным биохимических исследований рацион, лишенный полифенолов (БПР) и в большей степен и фенигидин при алиментарной полифенольной недостаточности (БПР+ФН) (системное воздействие) вызвали в сыворотке крови и (локально) в слизистой оболочке полости рта частичную инактивацию ряда защитных антиоксидантных белков-ферментов. Кроме того, индуктор гиперплазии десны в сочетании с полифенольной недостаточностью усиливал резорбцию костной ткани пародонта.

Препараты ПФЗ и кверцетин в данных экспериментальных условиях оказали нормализующее защитное действие, выразившееся в активации

антиоксидантных ферментов как в сыворотке крови, так и локально – в слизистой оболочке полости рта, причем в большей степен и под действием кверцетина.

По данным общей микроскопии и сопоставлении цитоморфологических показателей препараты растительных ПФЗ значительно снижали глубину эрозий в эпителиальном пласте слизистой оболочки полости рта; коэффициент эрозии эпителия снижался вдвое. Степень вакуолярной дистрофії под действием кверцетина была менее выраженной, чем под влиянием препарата ПФЗ.

На основании вышеизложенного можно утверждать, что положительное влияние препарата ПФЗ на слизистую оболочку полости рта крыс несколько уступало аналогичному действию кверцетина.

### Список литературы

1. Прохончуков А. А. Руководство по терапевтической стоматологии / А. Прохончуков, Н. Жижина // Под ред. А.И. Евдокимова. – М.: Медицина. – 1967. – 572 с.
2. 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.
3. 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.
4. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н. Козлянина, Г. Крюкова (СССР). – Опубл. 25.04.82, Бюл. №15. – 2 с.
5. Пахомова В. А. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н. Козлянина, Г. Крюкова // Патент А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48.– Опубл. 25.04.82, Бюл. № 15. – 2 с.
6. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
7. Меркулов Г. А. Курс патологической техники / Меркулов Г.А. – Л., 1969. – 423 с.
8. Пирс Э. Гистохимия / Пирс Э. – М., ИЛ., 1962. – 962 с.

Поступила 21.10.14

