

moving // Ibid.. –2006. –Vol. 5, № 3. – P. 21—24.

11. Yaatskiv O. G., et al. Reasons and forms of male infertility and methods of diagnosis of ejaculate as a main indicator of a male's health // Herald of Lvov Univer. – 2012. – Iss. 60. – Ser. "Biology"–P. 4—20.

Работа поступила в редакцию 01.12.2017 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.08:517.15:616.31

*A. B. Вальда<sup>1</sup>, O. E. Успенский<sup>2</sup>, A. П. Левицкий<sup>3</sup>*

## **ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРТУЛИНА У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПРЕДНИЗОЛОН**

<sup>1</sup>Одесский национальный медицинский университет;

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет;

<sup>3</sup>Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Одесса

**Summary.** Valda V. V., Uspenskii O. E., Levitsky A. P. **PARODONTOPROTECTIVE ACTION OF QUERTULIN IN RATS, WHICH RECEIVED PREDNISOLONE.** – *Odessa National Medical University, Kharkov National Medical University, Institute for Stomatology and Facial-mandibular Surgery; e-mail: flavan@gmail.com.* The objective: To determine parodontoprotective action of quertulin in rats, which received prednisolone. Materials and methods: Prednisolone was introduced per os into rats in dose 10 mg/kg (first 2 days) and 5 mg/kg (next 12 days). The gel of quertulin was applicated in rat gum in dose 0,3 ml every day during 14 days. After killing rats, the activity of elastase, urease, lysozyme, catalase and the contents of malonic dialdehyde (MDA) and hyaluronic acid were determined into gum. The activity of phosphatase, elastase, protease, the contents calcium, and protein were determined into the parodontale bone. The degree of caries and the degree of parodonte atrophy were determined. Results: the raising of the activities of elastase, urease and the content of MDA but the lowering of lysozyme and catalase activities has been established. The activity of acid phosphatase and elastase raised into parodontale bone after prednisolone but mineralisation index and content of hyaluronic acid lowered into rats which received prednisolone. The oral application of gel "Quertulin" lowered the activities of elastase and urease and the content of MDA, but raised the activity lysozyme, catalase and the content of hyaluronic acid. The content of calcium, mineralisation index and the degree of mineralisation raised after application of gel "Quertulin". Conclusion: Prednisolone cause immunodeficite, dysbiosis, periodontitis. The oral application of gel "Quertulin" realize antidysbiotic and parodontoprotective effects.

**Key words:** parodonte, prednisolone, quertulin, immunodeficite, dysbiosis, inflammation.

**Реферат.** Вальда В. В., Успенский О. Е., Левицкий А. П. **ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРТУЛИНА У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПРЕДНИЗОЛОН.** Преднизолон вызывает у крыс развитие иммунодефицита и снижение уровня защитных систем, что приводит к развитию дисбиоза и, как следствие, воспаления в пародонте (в десне и в костной ткани). В костной ткани пародонта преднизолон снижает минерализующую активность. Оральные аппликации геля «Квертулин» снижают степень иммунодефицита, повышают уровень защитных систем, снижают степень дисбиоза и воспаления, повышают в кости минерализующую активность и

степень ее минерализованности, что в конечном итоге снижает атрофию пародонта.

**Ключевые слова:** пародонт, преднизолон, квертулин, иммунодефицит, дисбиоз, воспаление.

**Реферат.** Вальда В. В., Успенський О. Є., Левицький А. П. **ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КВЕРТУЛІНА У ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ ПРЕДНІЗОЛОН.** Преднізолон викликає у щурів розвиток імунодефіцита та зниження рівня захисних систем, що приводить до розвитку дисбіоза і, як наслідок, запалення в пародонті (в яснах і в кістковій тканині). В кістковій тканині пародонта преднізолон знижує мінералізуючу активність. Оральні аплікації гелю «Квертулін» знижують ступінь імунодефіциту, підвищують рівень захисних систем, знижують ступінь дисбіоза і запалення, підвищують в кістці мінералізуючу активність і ступінь її мінералізації, що з рештою знижує атрофію пародонта.

**Ключові слова:** пародонт, преднізолон, квертулін, імунодефіцит, дисбіоз, запалення.

**Введение.** Введение в организм преднизолона вызывает развитие пародонтита, обусловленного иммунодефицитом и дисбиозом [1].

Нами ранее показана целесообразность применения для профилактики пародонтита антидисбиотических средств [2].

**Цель** исследования: определить пародонтопротекторное действие нового комплексного антидисбиотического средства квертулин, содержащего биофлавоноид кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция [3] у крыс, получавших преднизолон.

#### **Материалы и методы исследования**

В работе использован препарат преднизолона «Преднизолон-Дарница», производства ЧАО «Фармфирма «Дарница» в таблетках по 5 мг. Преднизолон вводили крысам *per os* в дозе 10 мг/кг (первые 2 дня), затем по 5 мг/кг в течение 12 дней. Препарат квертулина производства НПА «Одесская биотехнология» в соответствии с ТУ У 10.8-13903778-040:2012 (Заключение МОЗУ № 05.03.02-06/44464 от 17.05.2012) вводили *per os* в дозе 400 мг/кг с первого дня опыта в течение 14 дней.

В работе были использованы 24 белые крысы линии Вистар (самки, 3 месяца, живая масса 140±6 г), распределенных в 3 равные группы: 1-ая – контроль (интактные), 2-ая получала преднизолон, 3-я получала преднизолон и квертулин. Умерщвление животных осуществляли на 15-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну, выделяли нижнюю челюсть, получали костную ткань пародонта.

В цельной крови определяли содержание лейкоцитов, лейкоцитарную формулу и по соотношению лимфоцитов и нейтрофилов рассчитывали лимфоцитарный индекс [4]. В гомогенате десны определяли следующие биохимические маркеры: содержание малонового диальдегида (МДА) [5], активность эластазы [5], уреазы [6], лизоцима [6] и каталазы [5], а также содержание гиалуроновой кислоты [7]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [5], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по А. П. Левицкому [6].

В гомогенате костной ткани пародонта определяли содержание белка [8], кальция [9], активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз [9], активность эластазы [5] и общую протеолитическую активность (ОПА) [10]. По соотношению ЩФ/КФ определяли минерализующий индекс [11], а по соотношению содержания кальция и белка рассчитывали степень минерализации костной ткани [9].

На препарате нижней челюсти определяли степень атрофии альвеолярного отростка по А. В. Николаевой [12].

Результаты исследований подвергали стандартной статобработке [13].

#### **Результаты и их обсуждение**

В таблице 1 представлены результаты определения цитологических показателей крови крыс, получавших квертулин на фоне введения преднизолона. Из этих данных видно, что введение преднизолона снижает содержание лейкоцитов на 17 % (однако  $p > 0,05$ ) за счет 3-кратного снижения числа лимфоцитов, что можно рассматривать как лимфопению. При

этом доля нейтрофилов возрастает более чем в 3 раза и это дает почти 10-кратное снижение лимфоцитарного индекса. Введение квертулина оказывает несколько нормализующее влияние на эти показатели: проявляет тенденцию к некоторому увеличению числа лейкоцитов за счет увеличения доли лимфоцитов. Однако квертулин существенно снижает долю моноцитов (на 17 % по сравнению с группой, получавшей преднизолон, и на 26 % по сравнению с группой контроля).

Таблица 1

**Влияние квертулина на содержание лейкоцитов и лейкоцитарную формулу крови крыс, получавших преднизолон (n=8 во всех группах)**

Показатели	Гр. 1 Контроль интактные	Гр. 2 Преднизолон	Гр. 3 Преднизолон +Квертулин
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	12,2 $\pm$ 0,7	10,1 $\pm$ 1,4 $p > 0,05$	11,5 $\pm$ 1,4 $p > 0,3$ ; $p_1 > 0,3$
Нейтрофилы (Н), %	21,6 $\pm$ 1,2	69,8 $\pm$ 3,2 $p < 0,001$	61,1 $\pm$ 2,5 $p < 0,001$ ; $p_1 < 0,05$
Лимфоциты (Л), %	69,0 $\pm$ 2,3	23,6 $\pm$ 5,5 $p < 0,01$	32,0 $\pm$ 4,5 $p < 0,01$ ; $p_1 > 0,3$
Моноциты, %	7,8 $\pm$ 0,7	7,0 $\pm$ 1,4 $p > 0,3$	5,8 $\pm$ 0,6 $p < 0,05$ ; $p_1 > 0,3$
Эозинофилы, %	1,6 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,3 $p > 0,3$	1,5 $\pm$ 0,5 $p > 0,5$ ; $p_1 > 0,3$
Лимфоцитарный индекс ЛИ (Л/Н)	3,20 $\pm$ 0,15	0,34 $\pm$ 0,06 $p < 0,01$	0,52 $\pm$ 0,04 $p < 0,01$ ; $p_1 < 0,05$

*Примечания:* p – в сравнении с гр. № 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. № 2.

В таблице 2 представлены результаты определения биохимических показателей десны.

Таблица 2

**Влияние квертулина на биохимические показатели десны крыс, получавших преднизолон (n=8 во всех группах)**

Показатели	Гр. 1 Контроль интактные	Гр. 2 Преднизолон	Гр. 3 Преднизолон +Квертулин
МДА, ммоль/кг	12,6 $\pm$ 1,4	18,2 $\pm$ 1,1 $p < 0,05$	16,4 $\pm$ 1,1 $p < 0,05$ ; $p_1 > 0,1$
Эластаза, мк-кат/кг	43 $\pm$ 2	58 $\pm$ 3 $p < 0,01$	50 $\pm$ 1 $p < 0,05$ ; $p_1 < 0,05$
Уреаза, мк-кат/кг	0,47 $\pm$ 0,08	0,93 $\pm$ 0,05 $p < 0,05$	0,51 $\pm$ 0,09 $p > 0,5$ ; $p_1 < 0,05$
Лизоцим, ед/кг	384 $\pm$ 29	132 $\pm$ 19 $p < 0,01$	297 $\pm$ 29 $p > 0,05$ ; $p_1 < 0,05$
Каталаза, ммоль/кг	8,6 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,4 $p < 0,05$	7,6 $\pm$ 0,4 $p > 0,05$ ; $p_1 > 0,1$
Гиалуроновая кислота, /кг	1369 $\pm$ 45	953 $\pm$ 42 $p < 0,01$	1181 $\pm$ 48 $p < 0,05$ ; $p_1 < 0,05$
АПИ	6,83 $\pm$ 0,47	3,79 $\pm$ 0,30 $p < 0,01$	4,63 $\pm$ 0,38 $p < 0,05$ ; $p_1 > 0,05$
Степень дисбиоза	1,00 $\pm$ 0,15	5,82 $\pm$ 0,68 $p < 0,001$	1,40 $\pm$ 0,19 $p > 0,05$ ; $p_1 < 0,01$

*Примечания:* см. табл. 1.

Наблюдается достоверное увеличение уровня обоих биохимических маркеров воспаления: содержание МДА на 44 % и активность эластазы на 35 %, что может

свидетельствовать о развитии гингивита. Практически в 2 раза возрастает активность уреазы, являющейся биохимическим маркером бактериального обсеменения [6]. Активность лизоцима, напротив, снижается почти в 3 раза, и это свидетельствует о существенном снижении уровня неспецифического иммунитета. Достоверно снижается активность антиоксидантного фермента каталазы и, как следствие, почти 2-кратное снижение индекса АПИ, свидетельствующее о нарушении в десне баланса антиоксидантной и прооксидантной систем в пользу последней. Достоверно (на 30 %) снижается в десне содержание гиалуроновой кислоты, которая является межклеточным «цементом» [7], и это снижение предопределяет повышенную проницаемость тканей пародонта для микробов и их токсинов. Возможно, этим объясняется почти 6-кратное увеличение степени дисбиоза в десне.

Введение квертулина снижает уровень маркеров воспаления, практически полностью нормализует активность уреазы, лизоцима и каталазы, несколько увеличивает содержание гиалуроновой кислоты и индекс АПИ и почти нормализует степень дисбиоза.

В таблице 3 представлены результаты определения в костной ткани пародонта ряда биохимических показателей, отражающих ее состояние. Из достоверных изменений следует отметить увеличение активности кислой фосфатазы, являющейся маркером остеокластов [11] и увеличение активности эластазы, свидетельствующее о развитии воспаления в этой ткани. Наблюдается также тенденция к снижению содержания кальция и активности щелочной фосфатазы (маркер остеобластов) [11], однако несколько увеличивается протеолитическая активность.

Таблица 3

**Влияние квертулина на биохимические показатели костной ткани пародонта у крыс, получавших преднизолон (n=8 во всех группах)**

Показатели	Гр. 1 Контроль интактные	Гр. 2 Преднизолон	Гр. 3 Преднизолон +Квертулин
Белок, г/кг	17,4±0,5	16,6±0,9 p>0,3	14,3±1,1 p<0,05; p <sub>1</sub> >0,05
Кальций, моль/кг	2,19±0,09	1,92±0,07 p>0,05	2,12±0,06 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05
Щелочная фосфатаза (ЩФ), мк-кат/кг	175,7±6,0	158,0±8,9 p>0,05	179,5±11,2 p>0,3; p <sub>1</sub> >0,05
Кислая фосфатаза (КФ), мк-кат/кг	2,1±0,1	3,1±0,1 p<0,01	2,7±0,2 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,05
Эластаза, нкат/кг	14,5±0,8	18,2±1,3 p<0,05	16,1±1,3 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,3
ОПА, нкат/кг	29,8±3,7	36,9±3,1 p>0,05	28,3±2,2 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05
Минерализующий индекс	83,7±0,9	51,0±1,1 p<0,001	65,5±3,4 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,05
Степень минерализации, г/г	5,03±0,01	4,62±0,37 p>0,3	5,93±0,37 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,01

*Примечания:* см. табл. 1.

Введение квертулина вызывает значительное снижение содержания белка (на 18 % по сравнению с контролем) и активности кислой фосфатазы и ОПА. Вместе с тем, квертулин достоверно увеличил содержание кальция, нормализовал активность щелочной фосфатазы и эластазы.

Преднизолон вызывает значительное снижение минерализующей активности костной ткани, а квертулин ее повышает, хотя она и остается ниже уровня контроля. Квертулин очень сильно повышает степень минерализации костной ткани, которая при действии преднизолона имела явную тенденцию к снижению.

На рисунке показано, что преднизолон вызывает увеличение степени атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти, что является основным показателем наличия пародонтита. Квертулин полностью снижает остеолитическое действие преднизолона.

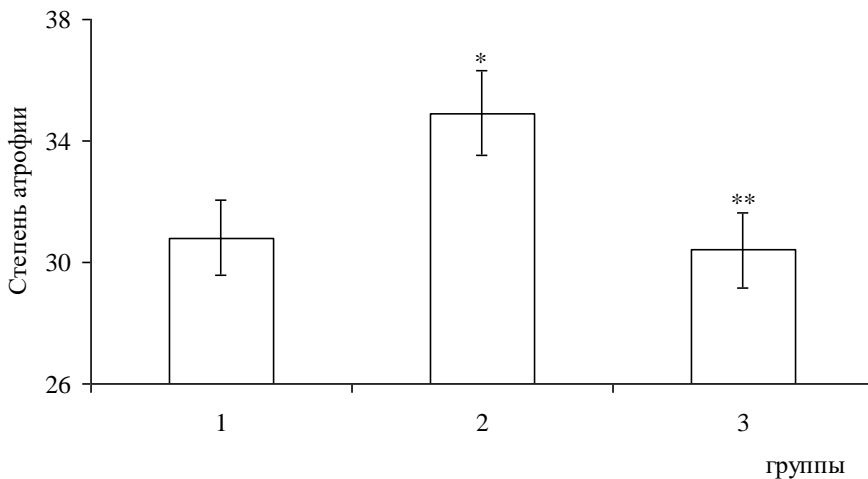


Рис. Влияние квертулина на степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти крыс, получавших преднизолон (1 – контроль; 2 – преднизолон; 3 – преднизолон + квертулин)

\* –  $p < 0,05$  в сравнении с гр. 1; \*\* –  $p < 0,05$  в сравнении с гр. 2

### Выводы

1. Преднизолон вызывает у крыс развитие иммунодефицита: лимфоцитарного (специфического) и лизоцимного (неспецифического).
2. Преднизолон снижает в десне уровень защитных реакций и способствует развитию дисбиоза и воспаления.
3. В костной ткани пародонта преднизолон снижает минерализующую активность и оказывает провоспалительное действие.
4. Квертулин устраняет явления дисбиоза, воспаления, повышает минерализующую активность и степень минерализованности костной ткани пародонта, предотвращает атрофию пародонта.

### Литература:

1. Stolyar V. The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis / V. Stolyar, A. Borysenko, A. Levitsky // *Journal of Health Sciences*. – 2014. – v. 04, № 02. – P. 257-268.
2. Левицкий А. П. Применение антидисбиотических средств в стоматологии / А. П. Левицкий // *Вісник стоматології*. – 2014. – № 4(89). – С. 89-92.
3. Квертулин. Витамин Р, пребиотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 20 с.
4. Базарнова М. А. (ред.). Руководство по клинической лабораторной диагностике. Часть I / М. А. Базарнова. – К.: Вища школа, 1981. – С. 55.
5. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
6. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ МЗУ, 2007. – 23 с.
7. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 298.
8. Protein measurement soith Folin phenol reagent / O. N. Lowry, N. J. Rosebrongt, A. L. Parr [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1951. – v. 193. – P. 265-275.
9. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. К.: ГФЦ МЗУ, 2005. – 50 с.

10. Барабаш Р. Д. Казеиноподобная и БАЭЭ-эстеразная активность слюны и слюнных желез крыс в постнатальном онтогенезе / Р. Д. Барабаш, А. П. Левицкий // БЭБИМ. – 1973. – № 8. – С. 65-67.
11. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 3. – С. 17-21.
12. Николаева А. В. Макро-микроскопические исследования зубо-челюстной системы крыс при воздействии на верхний шейный симпатический узел / А. В. Николаева // В кн.: Материалы к макро-микроскопической анатомии. – К., 1965. – вып. 3. – С. 96-101.
13. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

#### References:

1. Stolyar V. The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis / V. Stolyar, A. Borysenko, A. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – v. 04, № 02. – P. 257-268.
2. Levitsky A. P. The use of antidysbiotic preparations in dentistry. Visnyk stomatologii. 2014; 4(89): 89-92.
3. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Kvertulin. Vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor ["Querthulin", Vitamin P, prebiotic, hepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012: 20.
4. Bazarnova M. A. Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike [Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]. Ch. 1. Kiyev, Vyscha shkola, 1981: 55.
5. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.
6. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skringinga pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, 2007: 23.
7. Asatiani V. S. Novye metody biokhimicheskoy fotometrii [The new methods in biochemical photometry]. Moskva, Nauka, 1965: 298.
8. Lowry O. N., Rosebrongt N. J., Parr A. L. [et al.]. Protein measurement soith Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951; 193: 265-275.
9. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. [et al.]. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005: 50.
10. Barabash R. D., Levitsky A. P. Caseinolytic and BAEE-esteric activity of rat saliva and salivary glands in postnatal ontogenesis. BEBIM. 1973; 83: 65-67.
11. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Khodakov I. V. [et al.]. The enzymatic method of the estimation of the state of osseous tissue. Odeskiy medychnyy zhurnal. 2006; 3:17-21.
12. Nikolaeva A. V. Makro-mikroskopicheskiye issledovaniya zubo-chelustnoy sistemy krysa pri vozdeystvii na verkhniy sheynyy simpaticheskiy uzul [Macro-microscopic studies of maxillo-dental system of rats at the influence on upper cervical ganglion]. V kn.: Materialu k makro-mikroskopicheskoy anatomii. Kiev, 1965: 96-101.
13. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. Kiyev, Morion, 2000: 320.

Работа поступила в редакцию 07.12.2017 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования