

УДК 615.2:615.03-617.089.002

<sup>1</sup> М. И. Скидан, <sup>1</sup> К. В. Скидан, к. мед. н.,  
<sup>2</sup> А. П. Левицкий, д. биол. н.

<sup>1</sup> ГУ "Харьковский национальный медицинский университет"  
<sup>2</sup> ГУ "Институт стоматологии НАМНУ"

### ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ У КРЫС

*Введение тетрахлорметана вызывает у крыс поражение печени и одновременно увеличивает степень атрофии альвеолярного отростка, увеличение в костной ткани активности фосфатаз и протеаз. Использование кверцетина в дозе 14 мг/кг снижало на 18 % степень атрофии, нормализовало активность фосфатаз и протеаз и достоверно увеличивало индекс минерализации. Профилактическое введение кверцетина в дозе 5 мг/кг существенно снижало степень атрофии (на 24 %) и практически нормализовало все биохимические показатели костной ткани, повышая индекс минерализации и коллагенообразования.*

**Ключевые слова:** гепатит, пародонт, костная ткань, кверцетин, минерализация, коллагенообразование.

М. И. Скидан, К. В. Скидан, А. П. Левицкий

ДУ «Харківський національний медичний університет»  
 ДУ «Інститут стоматології НАМН України»

### ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ У ЩУРІВ

*Введення тетрахлорметану викликає у щурів ураження печінки і одночасно збільшує ступінь атрофії альвеолярного паростка, збільшує в кістковій тканині активність фосфатаз і протеаз. Використання кверцетину в дозі 14 мг/кг знижувало на 18 % ступінь атрофії, нормалізувало активність фосфатаз і протеаз та достовірно збільшувало індекс мінералізації. Профілактичне введення кверцетину в дозі 5 мг/кг суттєво знижувало ступінь атрофії (на 24 %) і практично нормалізувало усі біохімічні показники кісткової тканини, підвищуючи індекси мінералізації та колагенутворення.*

**Ключові слова:** гепатит, пародонт, кісткова тканина, кверцетин, мінералізація, колагенутворення.

М. I. Skidan, K. V. Skidan, A. P. Levitskij

"Kharkiv National Medical University"  
 SE "the Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"

### PERIODONTOPROTECTIVE EFFECT OF QUERCETHIN AT TOXIC HEPATITIS IN RATS

*The introduction of tetrachlormethane causes in rats the affection of liver and increases simultaneously the degree of alveolar appendage atrophy, the growth of activity of phosphatases and proteases in osseous tissue. The use of quercethin dosed at 14mg/kg has reduced the degree of atrophy by 18 %, normalized the activity of phosphatases and proteases and really increased the index of mineralization. The preventive introduction of quercethin dosed at 5mg/kg reduced considerably the degree of atrophy (by 24 %) and almost normalized all biochemical indices of osseous tissue, raising the indices of mineralization and collagen formation.*

**Key words:** hepatitis, periodontium, osseous tissue, quercethin, mineralization, collagen formation.

Имеются данные о нарушениях в системе минерализованных тканей при гепато-билиарной патологии [1-4]. Показано, что применение гепатопротекторов оказывает кариепротекторное и пародонтопротекторное действие [5].

В то же время известно, что ряд биофлавоноидов (особенно, из группы изофлавонов) обладают остеотропным действием, что нашло их применение для профилактики и лечения остеопороза, пародонтоза кариеза зубов, переломов костей [6]. Недавно появились работы, указывающие на гепатопротекторные свойства биофлавоноидов [7-9].

Все это обусловило цель настоящей работы – изучить эффективность остеопротекторного действия биофлавоноидов при патологии печени.

В качестве наиболее активного биофлавоноида был избран кверцетин [10]. Остеопротекторное действие на зубо-челюстную систему исследовали при моделировании двух форм токсического гепатита: гидразинового в сочетании с кишечным дисбиозом и гепатита, вызванного введением четыреххлористого углерода.

**Материалы и методы исследования.** Было проведено две серии опытов. В первой серии на 19 крысах-самках линии Вистар (возраст 5 месяцев, средняя живая масса 280 г) было изучено влияние токсического гепатита, вызываемого четыреххлористым углеродом, на состояние костной ткани пародонта и зубов. Четыреххлористый углерод вводили внутривентриально один раз в виде 50 %-ного раствора на подсолнечном масле в дозе 3,5 мл/кг. Через неделю крыс с гепатитом разделили поровну и одна часть получала с кормом ежедневно по 100 мг препарата "Кверцетин-гранулы" (производство Борщаговского химфармзавода), что в пересчете на чистый кверцетин составило 14 мг/кг. Через 2 месяца от начала опыта крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Выделяли челюсти, альвеолярный отросток нижней челюсти (для биохимических исследований) и определяли степень атрофии альвеолярного отростка по Николаевой [11] и подсчитывали число и глубину кариозных поражений. Для определения активности маркерных ферментов готовили гомогенат альвеолярной кости из расчета 75 мг/мл 0,1М цитратного буфера pH 6,1. Для определения кальция и неорганического фосфора готовили гомогенат альвеолярной кости из расчета 50 мг/25 мл 0,1N HCl. В гомогенатах определяли активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз [12], общую протеолитическую активность (ОПА) по расщеплению казеина [12], активность эластазы [12], концентрацию кальция и фосфора [12]. По соотношению активностей ЩФ и КФ рассчитывали минерализующий индекс (МИ), а по соотношению ОПА/эластаза – коллагенообразующий индекс (ИКО) [13].

Во второй серии опытов на 24 крысах-самках линии Вистар (возраст 1 месяц, исходная средняя масса 80 г) исследовали состояние альвеолярного отростка нижней челюсти крыс, 8 из которых предварительно получали кверцетин-гранулы в дозе 125 мг/кг, что в

пересчете на чистый кверцетин составило 5 мг/кг. Через 2 недели 16 крыс (в том числе 8, получавших кверцетин) стали получать с питьевой водой антибиотик линкомицин в дозе 50 мг/кг (модель кишечного дисбиоза [14]). Через 5 дней введение антибиотика прекращали и на 22-й день этим 16 крысам для моделирования гепатита ввели внутримышечно гидразин солянокислый в дозе 100 мг/кг. Через сутки после введения гидразина крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом и выделяли альвеолярный отросток нижней челюсти. В гомогенате кости исследовали активность маркерных ферментов: ЩФ, КФ, ОПА и эластазы. В блоках челюстей определяли атрофию альвеолярного отростка и производили определение числа и глубины кариозных поражений зубов.

**Результаты исследований и их обсуждение.**  
I серия. Результаты определения степени атрофии альвеолярного отростка и поражения зубов кариесом представлены в табл. 1. Как видно из этих данных, при токсическом гепатите через 2 месяца достоверно увеличивается степень атрофии пародонта и проявляется тенденция к росту числа и глубины кариозных поражений зубов.

Введение кверцетина на фоне развивающегося гепатита существенно снизило степень атрофии (на 18%) и число кариозных поражений (на 31%).

В табл. 2 представлены результаты биохимических исследований костной ткани крыс с гепатитом.

Таблица 1

**Влияние кверцетина на степень атрофии альвеолярного отростка и пораженность зубов кариесом крыс с токсическим гепатитом**

№ п/п	Группы	Атрофия альвеолярного отростка, %	Число кариозных поражений на 1 крысу	Глубина кариозных поражений
1	Контроль	27,9±1,3	4,9±0,4	5,4±0,7
2	Гепатит	31,0±0,7 p<0,05	5,5±0,9 p>0,05	5,7±1,0 p>0,05
3	Гепатит + кверцетин	25,4±1,3 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01	3,8±0,5 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,02	3,8±0,5 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05

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

Таблица 2

**Влияние кверцетина на биохимические показатели костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти крыс с токсическим гепатитом**

№ п/п	Показатели	Контроль	Гепатит	Гепатит+ кверцетин
1	ЩФ, мкат/кг	52,4±6,4	64,7±6,4 p>0,05	62,9±7,1 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,6
2	КФ, мкат/кг	2,98±0,10	4,25±0,52 p<0,05	3,15±0,34 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05
3	ОПА, нкат/кг	12,6±2,4	27,2±2,6 p<0,001	21,1±3,7 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05
4	Эластаза, нкат/кг	3,53±0,45	5,30±0,92 p>0,05	4,44±0,63 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,3
5	Кальций, моль/кг	2,92±0,08	2,68±0,09 p>0,05	2,99±0,03 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05
6	Фосфор, моль/кг	2,05±0,20	1,78±0,07 p>0,05	2,05±0,06 p=1 p <sub>1</sub> <0,02

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

Как видно из данных, представленных в табл. 2, при токсическом гепатите достоверно увеличивается активность КФ, что свидетельствует об активации остеокластов и увеличивается активность протеолити-

ческих ферментов. Напротив, содержание кальция и фосфора проявляет тенденцию к снижению у крыс с гепатитом. Введение кверцетина снижает активность КФ и протеаз, однако увеличивает содержание каль-

ция и фосфора. Рассчитанные по этим показателям минерализующий и коллагенообразующий индексы представлены в табл. 3, из которой следует, что при

гепатите минерализующая способность кости падает, а коллагенообразующая, напротив, увеличивается.

Таблица 3

**Влияние кверцетина на минерализующий и коллагенообразующий индексы костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти крыс с токсическим гепатитом**

№ п/п	Группы	Минерализующий индекс ЦФ/КФ	Индекс коллагенообразования ОПА/эластаза
1	Контроль	17,2±1,8	3,56±0,34
2	Гепатит	15,2±1,4 p>0,1	5,13±0,41 p<0,05
3	Гепатит + кверцетин	20,0±1,7 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,05	4,77±0,38 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3

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

Кверцетин существенно увеличивает минерализующий индекс и проявляет тенденцию к снижению коллагенообразующего индекса.

II серия. Результаты определения степени атрофии пародонта и пораженности зубов кариесом представлены в табл. 4, из которой видно, что токсический

гепатит в сочетании с кишечным дисбиозом вызывает уже через месяц значительное увеличение атрофии пародонта и рост кариозных поражений зубов.

Профилактический прием кверцетина предотвращает рост атрофии пародонта и пораженности зубов кариесом.

Таблица 4

**Влияние кверцетина на степень атрофии пародонта и пораженность зубов кариесом у крыс с гепатитом на фоне дисбиоза**

№ п/п	Группы	Атрофия альвеолярного отростка, %	Число кариозных поражений на 1 крысу	Глубина кариозных поражений
1	Контроль	16,2±0,8	2,5±0,5	2,6±0,6
2	Дисбиоз + гепатит	19,1±0,7 p<0,05	3,9±0,3 p<0,05	3,9±0,3 p<0,05
3	Дисбиоз + гепатит + кверцетин	16,9±0,7 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,05	2,8±0,5 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	2,8±0,5 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05

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

Таблица 5

**Влияние кверцетина на биохимические показатели костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти крыс с гепатитом на фоне дисбиоза**

№ п/п	Показатели	Контроль	Дисбиоз + гепатит	Дисбиоз + гепатит + кверцетин
1	2	3	4	5
1	ЩФ, мк-кат/кг	203,0±17,3	147,9±14,3 p<0,05	191,6±7,2 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,05
2	КФ, мк-кат/кг	21,6±2,5	29,3±0,8 p<0,01	22,9±2,4 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,05
3	ОПА, нкат/кг	13,6±1,0	19,7±1,5 p<0,01	14,5±1,3 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,05
4	Эластаза, нкат/кг	5,30±0,92	10,18±0,92 p<0,01	3,39±0,52 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,001

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5
5	ЩФ/КФ	9,40±0,97	5,05±0,51 p<0,01	8,37±0,74 p>0,3 p <sub>1</sub> <0,01
6	ОПА/эластаза	2,57±0,27	1,93±0,21 p>0,05	4,28±0,53 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01

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

В табл. 5 представлены результаты определения биохимических показателей костной ткани пародонта крыс с токсическим гепатитом на фоне кишечного дисбиоза. Как видно из этих данных, у крыс II серии опытов существенно ниже активность фосфатаз и почти в 2 раза ниже минерализующий индекс (ЩФ/КФ), что, возможно, объясняется более ранним возрастом этих крыс (всего 1 месяц). В остальном характер биохимических изменений, наблюдаемый у крыс I серии, повторяется и у этой группы животных, но только более четко видна активация остеокластов (повышение уровня КФ) и угнетение остеобластов (снижение уровня ЩФ). Протеолитическая активность костной ткани повышается у крыс с гепатитом, вызванным CCl<sub>4</sub> и у крыс с гидразиновым гепатитом на фоне дисбиоза, только в последнем случае более выражено повышение активности эластазы.

Введение кверцетина нормализует показатели ЩФ, КФ, ОПА и эластазы, а также минерализующий индекс, но сохраняет на высоком уровне индекс коллагенообразования (ОПА/эластаза).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что при токсическом гепатите, особенно, на фоне дисбиоза, возникают серьезные нарушения в костной ткани зубо-челюстной системы, проявляющиеся усилением атрофических и кариозных процессов, нарушением баланса остеобластов и остеокластов, существенным ослаблением минерализующей способности. Кверцетин обладает лечебно - профилактическим действием на костную ткань зубо-челюстной системы, что приводит к значительному снижению степени ее атрофии, предупреждению развития кариеса зубов, нормализации баланса остеобластов и остеокластов, снижению протеолитических процессов в костной ткани, восстановлению минерализующей способности при сохранении высокого уровня коллагенообразования.

Полученные нами данные являются обоснованием для клинического изучения препаратов кверцетина с целью повышения эффективности профилактики кариеса зубов и заболеваний пародонта у лиц с гепато-билиарной патологией.

### Список литературы

1. **Най J. E.** Bone disease in cholestatic liver disease / J.E. Nay // *Gastroenterology*. – 1995. – V. 108. – P. 276–283.
2. **Сухарська Т. В.** Сучасні аспекти профілактики і лікування остеопорозу при захворюваннях печінки / Т. В. Сухарська, В. В. Шманько, І. О. Крицький // *Вісник наукових досліджень*. – 2000. – № 2. – С. 8–10.
3. **Rouillard S.** Hepatic osteodystrophy / S. Rouillard, N.E. Lane // *Hepatology*. – 2001. – V. 33 (1). – P. 301–307.

4. **Порушення** обміну кальцію у щурів при експериментальному гепатохолеститі та його корекція / Ю.А. Калініченко, Н.В. Амеліна, М. Арєф [та ін.] // *Одеський медичний журнал*. – 2007. – № 4 (102). – С. 23–26.

5. **Демьяненко С. А.** Применение лецитиновых гепатопротекторов в стоматологии / С.А. Демьяненко – Симферополь: "Тарпан", 2010. – 52 с.

6. **Макаренко О. А.** Біохімічні механізми остеотропної дії флавоноїдів: Автореф. дис. ... доктора біол. наук. – Одеса, 2011. – 40 с.

7. **Hepatoprotective** effect of the natural fruit juice from *Aroma melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats / S. Valcheva-Kuzmanova, P. Borisova, B. Galunskova [et al.] // *Experimental and toxicologic pathology*. – 2004. – V. 56, № 3. – С. 195–201.

8. **Effects of** soybean isoflavone on liver oxidative stress resulting from <sup>60</sup>Co-gamma rays / L.-h. Song, D.-l. Cai, X.-l. Chen [et al.] // *Acad. J. Sccond. Mil. Med. Univ.* – 2005. – V. 26, № 2. – P. 151–154.

9. **Oz H. S.** Green-tea polyphenols downregulate cyclooxygenase and Bcl-2 activity in acetaminopheninduced hepatotoxicity / H.S. Oz, T.S. Chen // *Dig. Diseases and Sci.* – 2008. – V. 8, № 4. – С. 28–30.

10. **Левицький А. П.** Применение кверцетина в стоматологии / А. П. Левицький, К. В. Скидан, М. И. Скидан // *Вісник стоматології*. – 2010. – № 1. – С. 81–87.

11. **Николаева А. В.** Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей пародонта при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Харьков, 1967. – 18 с.

12. **Експериментальні** методи дослідження стимуляторів остеогенеза: Метод. рекомендації / А.П. Левицький, О.А. Макаренко, О.В. Деньга [и др.] – К.: ГФЦ, 2005. – 30 с.

13. **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.

14. **Пат. № 31012**, UA. МПК (2006) А61Р31/00. Спосіб моделювання дисбіозу (дисбактеріозу) / Левицький А.П., Селиванська І.О., Цісельський Ю.В., Почтар В.М., Розсаханова Л.М., Гулавський В.Т. – опубл.: 25.03.2008. – 2008, Бюл. № 6.

Поступила 28.06.12

