

УДК 616.714-002-021.6.27-085.322.451.16:[582.991.1:582.711.71]

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>

Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите

Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В., Порохова Е.Д., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д., Белоусов М.В.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель работы – исследование влияния узких фракций биологически активных веществ сосюреи спорной и лабазника вязолистного на основные целевые показатели при экспериментальном остеомиелите: процессы регенерации костной ткани и гемопоэтическую функцию красного костного мозга.

Материалы и методы. В эксперименте использовали бутанольную, водную и элемент-органическую фракции сосюреи спорной; этилацетатную, бутанольную и водную фракции лабазника вязолистного, полученные методом жидкостной экстракции из этанольных экстрактов соответствующих растений с помощью органических растворителей. После моделирования остеомиелита правой бедренной кости у крыс и курсового лечения в течение 28 сут оценивали состояние костномозгового кровотока и проводили морфологическое исследование пораженной конечности.

Результаты. Максимальную остеогенную активность проявили бутанольная фракция сосюреи спорной (в дозе 10 мг/кг), содержащая флавонолгликозиды, водная фракция (в дозе 80 мг/кг), содержащая в своем составе полисахариды, и элемент-органическая фракция (в дозе 10 мг/кг), представленная органическим кальцием. Водная фракция лабазника вязолистного (в дозе 50 мг/кг) проявила выраженную гемопоэтическую активность за счет стимуляции эритро-, грануло- и лимфопоэза в костном мозге крыс с экспериментальным остеомиелитом.

Ключевые слова: *Saussurea controversa* DC, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., фракции, экспериментальный остеомиелит, миелограмма, морфологическое исследование.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ (протокол № 4316 от 09.11.2015).

Для цитирования: Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В., Порохова Е.Д., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д., Белоусов М.В. Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>.

✉ Авдеева Елена Юрьевна, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru.

УДК 616.714-002-021.6.27-085.322.451.16:[582.991.1:582.711.71]
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>

Comparative evaluation of osteogenic activity and the effect on hematopoietic function of bone marrow of fractions of *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* extracts in experimental osteomyelitis

Avdeeva E.Yu., Skorokhodova M.G., Sukhodolo I.V., Porokhova E.D., Slizovsky G.V.,
Mushtovatova L.S., Reshetov Ya.E., Ivanov S.D., Belousov M.V.

Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the work was to study the effect of fractions from *Saussurea controversa* and *Meadowsweet* extracts on hemopoiesis and regeneration of bone tissue, which are the main target indicators in experimental osteomyelitis.

Materials and methods. In the experiment we used butanol, water and element-organic fractions from the *Saussurea controversa* extract as well as ethyl acetate, butanol and water fractions from the *Meadowsweet* extract, obtained by liquid extraction of the extracts from corresponding plants with the help of organic solvents. After modeling osteomyelitis of the right femur in rats and course treatment for 28 days, the state of bone marrow hemopoiesis was evaluated and morphological examination of the affected limb was performed.

Results. The butanol fraction (at a dose of 10 mg/kg) containing flavonol glycosides, the water fraction (at a dose of 80 mg/kg) containing polysaccharides in its composition and the element-organic fraction (at a dose of 10 mg/kg) represented by organic calcium showed the highest osteogenic activity in the *Saussurea controversa* extract. The water fraction from the *Meadowsweet* extract (at a dose of 50 mg/kg) demonstrated pronounced hemopoietic activity due to stimulating erythro-, granulo- and lymphopoiesis in the bone marrow of rats with experimental osteomyelitis.

Key words: *Saussurea controversa* DC, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim, fractions, experimental osteomyelitis, a myelogram, morphological study.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at SSMU (Protocol No. 4316 of 09.11.2015).

For citation: Avdeeva E.Yu., Skorokhodova M.G., Sukhodolo I.V., Porokhova E.D., Slizovsky G.V., Mushtovatova L.S., Reshetov Ya.E., Ivanov S.D., Belousov M.V. Comparative evaluation of osteogenic activity and the effect on hematopoietic function of bone marrow of fractions of *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* extracts in experimental osteomyelitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>.

ВВЕДЕНИЕ

Остеомиелит занимает третье место после травм и операций в структуре заболеваний опорно-двигательного аппарата. Несмотря на то, что основным этиологическим фактором является микробная контаминация, заболевание происходит

на фоне сенсбилизации организма и ослабления его иммунной защиты. При этом патогенез заболевания осложняется нарастающим воспалительным процессом, нарушением кровоснабжения и формирования зрелой костной ткани в очаге поражения [1]. Такая мультиплетность патогенетических факторов обуславливает сложность

лечения данной патологии и нередко приводит к инвалидизации. Лечение остеомиелита наряду с хирургическим вмешательством требует длительного применения ряда синтетических лекарственных препаратов, повышающих ксенобиотическую нагрузку на организм [2].

Для комплексного лечения остеомиелита целесообразно применение средств на основе активных компонентов растений, для которых характерны мультитаргетное действие и низкая токсичность. Так, японскими исследователями установлено стимулирующее влияние полисахаридов на процессы созревания внеклеточного коллагенового матрикса – важнейшего компонента для минерализации костной ткани [3]. Выявлена остеопротективная активность природных соединений полифенольной природы [4, 5], хелатных соединений кальция с органическими кислотами [6]. Ранее на модельном остеомиелите было выявлено, что экстракты сосюреи спорной и лабазника вязолистного самостоятельно и в сочетании с антибиотикотерапией способствуют уменьшению воспалительного процесса в очаге поражения, улучшают показатели иммунореактивности организма и перспективны для создания лекарственных средств профилактики и комплексной терапии гнойно-некротических поражений, в том числе остеомиелита [7].

Для разработки нормативной документации на сырье, обоснования технологии лекарственных форм и внедрения в официальную медицину перспективных кандидатов необходимо выявить носителей фармакологической активности указанных экстрактов. Поэтому цель настоящей

работы состояла в исследовании влияния узких фракций биологически активных соединений (БАС) сосюреи спорной и лабазника вязолистного на основные целевые показатели: гемопоэз и процессы регенерации костной ткани при экспериментальном остеомиелите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали надземные части *Saussurea controversa* DC (далее *S.c.*) и *Fillipendula ulmaria* (L.) Maxim. (далее *F.u.*), собранные в фазу цветения в 2014 г. в Иркутской и Томской областях соответственно. Экстракцию сырья (40% *S.c.* и 70% *F.u.*) проводили методом трехкратной мацерации при нагревании до 80 °С этанолом в течение 30 мин. Извлечения концентрировали под вакуумом (50 °С) и конвективным способом высушивали экстракты до содержания влаги не более 5%. Выход экстрактов составил около 30%.

Полученные сухие экстракты растворяли в воде и фракционировали рядом растворителей с увеличивающейся полярностью (хлороформ, этилацетат, бутанол-1). При растворении экстракта *S.c.* выпал белый аморфный осадок – элемент-органическая фракция (ЭОФС). Полученные извлечения и водный остаток концентрировали под вакуумом и высушивали. В результате были получены фракции *S.c.* (хлороформная, этилацетатная, бутанольная (БФС), водная (ВФС)) и аналогичные фракции *F.u.* (хлороформная, этилацетатная (ЭАФЛ), бутанольная (БФЛ), водная (ВФЛ)). В дальнейшем исследовали фракции, выход которых превышал 1% от воздушно-сухого сырья (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Выход фракций <i>Saussurea controversa</i> и <i>Fillipendula ulmaria</i> (%) от сырья (1) и экстракта (2) Yield of fractions <i>Saussurea controversa</i> and <i>Fillipendula ulmaria</i> (%) from raw material (1) and extract (2)										
Вид сырья Type of raw material	Хлороформная фракция Chloroform fraction		Этилацетатная фракция Ethyl acetate fraction		Бутанольная фракция Butanol fraction		Водная фракция Water fraction		Элемент-органическая фракция Element-organic fraction	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>S. controversa</i>	0,12	0,36	0,73	2,20	2,13	6,50	27,50	83,75	2,82	7,19
<i>F. ulmaria</i>	0,08	0,70	1,90	16,30	2,20	19,10	25,82	6,90	–	–

Исследование проводили на половозрелых самцах крыс линии Вистар ($n = 48$) массой 280–300 г. Остеомиелит правой бедренной кости моделировали в соответствии с ранее разработанным способом (патент № 2584402 от 21.04.2016).

Крыс распределяли на восемь групп. Группа 1 – интактные; группа 2 – с экспериментальным остеомиелитом (ЭО), без лечения; группа 3 – с

ЭО, леченные ЭОФС (10 мг/кг); группа 4 – с ЭО, леченные БФС (10 мг/кг); группа 5 – с ЭО, леченные ВФС (80 мг/кг); группа 6 – с ЭО, леченные ЭАФЛ (25 мг/кг); группа 7 – с ЭО, леченные БФЛ (25 мг/кг); группа 8 – с ЭО, леченные ВФЛ (50 мг/кг).

Фракции экстрактов растений вводили животным соответствующих групп в течение 28 сут вну-

трижелудочно в виде водной суспензии в объеме 2 мл с 7-х сут после проведения операции. Дозы фракций рассчитывали, исходя из их процентного содержания в эквивалентной дозе активного экстракта (100 мг/кг).

На 36-е сут при использовании CO₂-асфиксии животных выводили из эксперимента. Состояние костномозгового кроветворения у крыс оценивали путем подсчета общего количества ядро-содержащих клеток (ОКК) на бедренную кость ($\times 10^6$ /бедро) и анализа миелограмм, полученных из миелоидной ткани грудины. Для морфологического исследования пораженную кость декальцинировали по Гриппу, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили морфометрию в программе ImageJ1.5.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS 17.0. Рассчитывали параметры распределений: медиану Me , 25%-й (Q_1) и 75%-й квантили (Q_3). Для оценки статистической значимости различий применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате развития экспериментального остеомиелита в костном мозге крыс, не получавших лечения, наблюдали характерную для данной патологии картину: уменьшение общего количества миелокариоцитов, угнетение эритроидного ростка, резкое уменьшение количества гранулоцитов и лимфоцитов (табл. 2). В группах крыс, получавших лечение, в той или иной мере происходило улучшение показателей костномозгового кроветворения, но эффективность воздействия была различна. Так, достоверное увеличение ОКК наблюдали лишь в четырех группах животных, получавших ЭОФС, БФС, ЭАФЛ и ВФЛ. Причем ВФЛ (группа 8) нормализовала этот показатель в большей степени, на 53%. В группе 8 данное изменение происходило за счет достоверного увеличения количества молодых и зрелых форм эритроидного и гранулоцитарного рядов до показателей в интактной группе. ВФЛ так же достоверно увеличивала лимфопоэз в 2 раза по сравнению с группой 2 (без лечения). Таким образом, этанольный экстракт *F.u.* проявляет выраженную гемопоэтическую активность за счет биологически активных веществ, сосредоточенных в ВФЛ.

Таблица 2
Table 2

Клеточность костного мозга крыс с экспериментальным остеомиелитом после введения фракций <i>Saussurea controversa</i> и <i>Fillipendula ulmaria</i>								
Bone-marrow cellularity in rats with experimental osteomyelitis after introducing the <i>Saussurea controversa</i> and <i>Fillipendula ulmaria</i> fractions								
Показатель Indicator	Количество клеток, $\times 10^6$ на бедро, $n = 6$, $Me [Q_1; Q_3]$							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (Eofs)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAFF)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFF)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFF)
ОКК NC	91,50 [90,25; 92,75]	57,07 ¹ [53,52; 64,07]	69,50 ² [67,25; 78,90]	66,50 ² [62,50; 76,00]	64,75 [57,12; 68,00]	72,10 ² [66,50; 78,60]	60,65 [50,45; 61,00]	88,30 ² [76,42; 90,20]
Эритробласты Erythroblasts	0,46 [0,46; 0,69]	0,00 ¹ [0,00; 0,14]	0,18 [0,00; 0,63]	0,00 ¹ [0,00; 0,35]	0,00 ¹ [0,00; 0,24]	0,36 ¹ [0,00; 0,36]	0,29 [0,00; 0,72]	0,43 [0,00; 0,85]
Пронормобласты Pronormoblasts	2,74 [1,24; 4,22]	0,28 ¹ [0,00; 0,98]	0,54 ¹ [0,36; 0,72]	0,35 ¹ [0,00; 1,03]	0,33 ¹ [0,16; 0,33]	0,73 [0,54; 1,27]	0,57 [0,43; 1,43]	1,28 [0,85; 1,49]
Базофильные нормобласты Basophylic normoblasts	4,58 [4,58; 5,71]	1,12 ¹ [0,56; 3,36]	1,98 [1,53; 3,78]	2,76 [2,07; 3,96]	1,30 [0,97; 1,95]	4,35 [2,90; 4,53]	2,87 [1,58; 4,59]	4,25 ² [2,97; 5,52]
Полихроматофильные нормобласты Rubricytes	11,90 [11,44; 15,10]	5,60 ¹ [2,66; 7,28]	7,20 ¹ [5,85; 9,96]	8,97 ^{1,2} [6,90; 9,66]	3,90 ¹ [2,92; 7,48]	8,70 ² [6,89; 11,24]	6,89 ¹ [4,59; 8,03]	11,05 ² [7,22; 12,75]
Оксифильные нормобласты Oxyphilic normoblasts	9,61 [8,46; 12,80]	5,04 [3,43; 8,75]	13,32 ² [8,14; 16,20]	6,90 [5,17; 6,90]	9,43 [6,83; 11,05]	9,06 [6,16; 14,50]	6,89 [3,73; 8,90]	12,75 ² [8,50; 12,75]
Митозы эритроидного ряда Erythroid mitoses	1,14 [0,92; 2,06]	0,28 ¹ [0,00; 0,56]	0,54 [0,36; 0,99]	0,69 [0,17; 1,38]	0,33 [0,00; 1,14]	1,45 [0,36; 2,17]	0,86 [0,28; 1,15]	1,70 ² [1,06; 1,70]
Всего эритрокариоцитов Total number of erythro- karyocytes	31,12 [22,85; 35,00]	13,72 ¹ [7,42; 16,38]	23,76 ² [18,49; 30,03]	19,33 ² [15,35; 21,22]	14,64 [11,39; 21,96]	27,55 ² [20,12; 29,37]	21,52 [11,34; 22,53]	30,60 ² [22,95; 33,15]

Окончание табл. 2
End of table 2

Показатель Indicator	Количество клеток, ×10 ⁶ на бедро, n = 6, Me [Q ₁ ; Q ₃]							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (EOFS)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAFF)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFF)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFF)
Миелобласты Myeloblasts	1,47 [0,46; 1,83]	0,56 [0,28; 0,56]	0,54 [0,09; 0,72]	0,30 [0,00; 0,52]	0,33 [0,00; 0,49]	0,50 [0,00; 1,09]	1,15 [0,43; 1,30]	0,50 [0,00; 1,06]
Промиелоциты Promyelocytes	2,29 [1,14; 4,12]	1,12 [0,84; 1,12]	1,80 [1,17; 3,24]	1,73 ² [1,38; 1,90]	1,30 [0,81; 1,96]	2,90 ² [1,81; 3,26]	2,30 ² [1,43; 4,30]	2,55 ² [1,70; 3,82]
Миелоциты Myelocytes	3,66 [2,97; 4,34]	1,68 ¹ [0,56; 2,24]	3,60 ² [2,52; 3,60]	2,07 ¹ [1,38; 2,07]	1,96 ¹ [1,30; 2,12]	3,63 [2,18; 5,44]	3,44 ² [2,58; 4,30]	3,40 ² [3,40; 4,46]
Метамиелоциты Metamyelocytes	4,58 [4,12; 5,26]	1,96 ¹ [1,96; 3,42]	3,60 [3,06; 4,68]	3,45 ² [3,10; 4,83]	3,36 [2,94; 4,62]	3,63 [2,90; 6,52]	5,17 ² [4,59; 5,74]	5,95 ² [5,10; 7,65]
Палочкоядерные нейтрофилы Band neutrophils	9,61 [9,15; 14,63]	8,40 [8,12; 10,08]	8,28 [5,58; 9,90]	10,36 [6,90; 11,38]	5,87 ¹ [4,89; 6,20]	5,80 [5,44; 9,42]	6,31 ¹ [4,59; 8,61]	8,50 [6,37; 10,62]
Сегментоядерные нейтрофилы Segmented neutrophils	11,90 [10,06; 16,93]	7,00 [5,60; 10,64]	12,60 [9,18; 14,40]	11,04 [7,24; 12,76]	13,04 ² [11,41; 15,00]	13,05 [7,95; 13,77]	8,61 ¹ [6,60; 8,61]	14,88 ² [12,32; 15,94]
Эозинофилы (все генерации) Eosinophils (all gener- ations)	2,75 [1,83; 4,57]	2,80 [1,26; 3,36]	3,42 [1,53; 4,77]	2,76 [2,07; 4,31]	1,96 [1,30; 3,15]	2,90 [1,63; 3,81]	1,72 [1,43; 2,15]	2,55 [1,91; 3,40]
Митозы миелоидного ряда Myeloid mitoses	0,46 [0,11; 1,48]	0,56 [0,14; 0,70]	0,36 [0,36; 0,36]	0,37 [0,17; 0,69]	0,65 [0,16; 1,14]	0,73 [0,18; 0,73]	0,29 [0,14; 0,57]	0,21 [0,00; 0,74]
Всего гранулоцитов Total number of granu- locytes	39,79 [35,23; 45,76]	24,72 ¹ [21,28; 29,28]	33,48 [27,09; 38,79]	32,78 [25,20; 35,02]	29,21 [25,62; 31,50]	33,36 ² [31,19; 34,63]	29,84 [24,54; 32,43]	39,53 ² [34,43; 43,14]
Моноциты Monocytes	4,58 [3,89; 5,95]	1,96 ¹ [1,68; 3,36]	2,16 [1,44; 3,69]	2,07 ¹ [1,21; 3,10]	1,30 ¹ [0,98; 2,93]	2,17 ¹ [1,09; 2,17]	1,15 ¹ [0,86; 3,15]	1,70 ¹ [1,27; 2,55]
Мегакариоциты Megakaryocytes	0,00 [0,00; 0,34]	0,56 [0,00; 1,40]	0,18 [0,00; 1,71]	0,69 [0,69; 1,20]	0,65 [0,65; 1,95]	0,00 [0,00; 0,72]	0,57 [0,43; 0,86]	0,00 [0,00; 1,27]
Лимфоциты Lymphocytes	15,55 [13,26; 18,52]	8,40 ¹ [5,39; 10,36]	10,80 ¹ [7,92; 11,52]	15,52 ² [11,47; 22,42]	15,00 ² [11,24; 21,35]	8,85 ¹ [7,98; 12,33]	8,61 ¹ [4,02; 9,18]	17,00 ² [11,90; 18,27]
Плазмоциты Plasmacytes	0,92 [0,23; 1,37]	1,40 [0,98; 3,22]	1,26 [0,54; 3,60]	0,69 [0,17; 1,72]	0,65 [0,00; 1,47]	1,45 [0,73; 2,90]	0,57 [0,29; 1,72]	0,43 [0,00; 2,55]
Ретикулоциты Reticulocytes	1,60 [0,68; 1,83]	2,24 [0,84; 2,52]	1,44 [0,90; 1,44]	0,69 [0,34; 1,38]	0,65 [0,65; 1,30]	0,36 [0,00; 0,36]	0,29 [0,00; 0,86]	0,43 [0,00; 1,27]
Индекс созревания эритрокариоцитов Maturation index of erythrocytes	0,69	0,77	0,86	0,82	0,91	0,64	0,64	0,78
Индекс созревания нейтрофилов Maturation index of neutrophils	0,48	0,31	0,43	0,34	0,35	0,54	0,73	0,51
Лейкоэритробласти- ческое отношение Leucoerythroblastic ratio	1,97	2,55	1,95	2,60	3,10	1,61	1,84	1,90

Примечание. Здесь и в табл. 3: ЭО – экспериментальный остеомиелит; ЭОФС – элементарноорганическая фракция; БФС – бутанольная фракция *Saussurea controversa*; ВФС – водная фракция *Saussurea controversa*; ЭАФЛ – этилацетатная *Fillipendula ulmaria*; БФЛ – бутанольная фракция *Fillipendula ulmaria*; ВФЛ – водная фракция *Fillipendula ulmaria*; ОКК – ядро-содержащие клетки.

^{1, 2, 3} p ≤ 0,05 в сравнении с группами 1, 2 и 3 соответственно (здесь и в табл. 3).

Note. Here and in Table 3: EO – experimental osteomyelitis; EOFS – element-organic fraction from *Saussurea controversa*; BFS – butanol fraction from *Saussurea controversa*; WFS – water fraction from *Saussurea controversa*; EAFF – ethyl acetate fraction from *Fillipendula ulmaria*; BFF – butanol fraction from *Fillipendula ulmaria*; WFF – water fraction from *Fillipendula ulmaria*; NC – nuclear cells.

^{1, 2, 3} p ≤ 0,05 as opposed to groups 1,2 and 3, respectively (here and in Table 3).

Фракции *S.c.* проявили несколько меньшую терапевтическую активность, чем ВФЛ. Увеличение ОКК наблюдали только в группах, получавших ЭОФС и БФС, на 16–20% за счет достоверного увеличения общего количества эритрокариоцитов и тенденции к увеличению – гранулоцитов. Нормализация числа лимфоцитов отмечена в группах 4 и 5, получавших БФС и ВФС. Таким образом, не удалось выделить фракцию экстракта *S.c.*, обеспечивающую гемопоэтическую активность, все фракции в равной степени имеют тенденцию к активности, но в гораздо меньшей степени, чем фракция *F.m.* (ВФЛ).

При морфологическом исследовании костные трабекулы и костный мозг интактных крыс (группа 1) имели нормальное строение, отмечалось незначительное количество грануляционной ткани, единичные участки незрелой костной ткани. У животных без лечения (группа 2) отмечали признаки выраженного воспаления. В костномозговых пространствах – лейкоцитарную инфильтрацию и гиперемии сосудов, некроз и аутолиз костных пластинок с образованием секвестров. Наряду с признаками воспаления в кости отмечались слабо выраженные признаки регенерации. В группах

крыс, получавших терапию (группы 3–8), по сравнению с нелечеными животными интенсивность воспалительных процессов была снижена. Отмечались признаки регенерации кости: активация эндоста, периоста, появление остеобластических «почек», формирование грануляционной ткани, увеличивалось количество незрелой костной ткани.

При наблюдении морфологической картины в группе крыс с ЭО без лечения (группа 2) происходило сокращение удельной площади незрелой и зрелой костной ткани при одновременном увеличении плотности распределения остеобластов, что свидетельствовало об активации регенеративной способности костной ткани в условиях патологии. Но в то же время процесс резорбции происходил несколько быстрее, чем процесс регенерации, что не способствовало формированию полноценной зрелой костной ткани в сравнении с интактной группой (табл. 3). Таким образом, процессы деструкции костной ткани в острую фазу заболевания, вызванные нарушением микроциркуляции в очаге, повышением внутрикостной гипертензии, воспалением и нагноением, не позволили достичь баланса с процессами регенерации костных структур.

Таблица 3
Table 3

Характеристика костной ткани крыс с экспериментальным остеомиелитом после введения фракций *Saussurea controversa* и *Fillipendula ulmaria*
Characterostocs of the bone tissue in rats with experimental osteomyelitis after introducing *Saussurea controversa* and *Fillipendula ulmaria*

Показатель	Группа исследования, n = 6, Me [Q ₁ ; Q ₃]							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (EOFS)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAFF)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFF)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFF)
Удельная площадь, мкм ² /мкм ² Specific area of, mcm ² /mcm ²								
зрелой костной ткани trabecular bone tissue	0,426 [0,413; 0,448]	0,361 ¹ [0,333; 0,420]	0,426 ² [0,400; 0,453]	0,423 ² [0,406; 0,441]	0,405 [0,388; 0,429]	0,385 [0,331; 0,380]	0,362 [0,349; 0,420]	0,379 [0,332; 0,405]
незрелой костной ткани nonlamellar bone	0,051 [0,041; 0,053]	0,034 [0,031; 0,063]	0,102 ^{1, 2} [0,095; 0,112]	0,118 ^{1, 2} [0,100; 0,128]	0,104 ^{1, 2} [0,094; 0,108]	0,063 [0,048; 0,083]	0,091 ^{1, 2} [0,082; 0,098]	0,089 ^{1, 2} [0,071; 0,097]
грануляционной ткани granulation tissue	0,005 [0,004; 0,007]	0,007 [0,005; 0,011]	0,018 ^{1, 2} [0,015; 0,021]	0,019 ^{1, 2} [0,017; 0,021]	0,017 ² [0,016; 0,019]	0,024 ^{1, 2} [0,022; 0,029]	0,022 ^{1, 2} [0,017; 0,024]	0,020 ^{1, 2} [0,016; 0,024]
активных остеобластов active osteoblasts	0,00127 [0,00088; 0,00185]	0,00350 ¹ [0,00302; 0,00497]	0,00765 ^{1, 2} [0,00565; 0,00865]	0,01045 ^{1, 2} [0,00947; 0,01187]	0,00860 ² [0,00772; 0,01047]	0,00835 ^{1, 2} [0,00642; 0,01000]	0,00925 ^{1, 2} [0,00757; 0,01010]	0,00765 ^{1, 2} [0,00635; 0,00997]
Плотность распре- деления активных остеобластов, клетка/мм ² Density distribution of active osteoblasts, cell/mm ²	8,016 [4,928; 10,973]	26,547 ¹ [20,996; 33,644]	46,918 ^{1, 2} [40,741; 56,999]	94,099 ^{1, 2, 3} [79,446; 103,736]	63,232 ^{1, 2} [54,475; 82,337]	47,391 ^{1, 2} [37,127; 63,675]	69,654 ^{1, 2} [56,996; 81,811]	60,426 ^{1, 2} [46,852; 68,600]

Такая ситуация способствует переходу в хроническую стадию, несмотря на включение механизмов местной и общей системы гомеостаза [1].

В группах 3–5, получавших фракции *S.c.*, наблюдали качественное усиление регенерации, преобладающей над процессами резорбции, приводящей к формированию зрелых костных структур. Наиболее мощная активация регенераторных процессов наблюдалась в группах, получавших БФС и ВФС (группы 4–5), что подтверждается многократным увеличением удельной площади активных остеобластов, незрелой костной ткани и грануляционной ткани в сравнении с интактной группой и животными без лечения (группа 2). Максимальной активностью обладает БФС, применение которой способствовало повышению плотности распределения активных остеобластов в сравнении с нелечеными животными в 3,6 раза, а интактными – в 11,7 раз. При этом стимулирование регенераторных процессов было достаточным для своевременного формирования зрелой костной ткани, ее удельная площадь достигла соответствующего значения в интактной группе. Несмотря на то, что ЭОФС (группа 3) стимулировала остеобласты в меньшей степени, удельная площадь зрелой костной ткани в этой группе была максимальной. Вероятно, этот процесс обеспечен высоким содержанием ионов кальция (до 30%) во фракции в виде комплексного соединения с компонентом органической природы [8], необходимым элементом для формирования зрелых костных структур.

В группах крыс, получавших фракции *F.u.*, тоже происходила активация остеогенной активности, более выраженная в группе 7 (БФЛ). Об этом свидетельствует достоверное увеличение удельной площади активных остеобластов, незрелой костной и грануляционной ткани, плотности распределения активных остеобластов в сравнении с группой крыс, не получавших лечения. Но эти процессы были недостаточны для своевременного формирования зрелой костной ткани в зоне поражения.

Таким образом, фракции *S.c.* проявляют большую остеогенную активность, нежели фракции *F.u.* И в первом, и во втором случае данный вид активности обеспечивают фенольные компоненты бутанольных фракций. Бутанольная фракция *S.c.* преимущественно содержит пять гликозидов кверцетина, которые в комплексе обладают остеогенной активностью [9]. Стоит отметить, что в БФЛ также содержится большое количество флавонолгликозидов и галловой кислоты [10]. Интерес к по-

ску БАС растений с остеогенной активностью возрос в последние годы среди иностранных ученых. Было выявлено повышение активности остеобластов при воздействии соединений со сходным строением [4, 11]. Таким образом, среди широкого спектра общеизвестных видов биологической активности полифенолов (капилляропротекторной, противовоспалительной, иммуностроительной, антиоксидантной и др.) можно говорить о новой, малоизученной присущей им остеогенной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые на экспериментальной модели остеомиелита проведено сравнительное исследование остеопротективного действия узких фракций биологически активных веществ *Saussurea controversa* DC и *Fillipendula ulmaria* (L.) Maxim., различающихся по химическому составу. Максимальную остеогенную активность проявляет бутанольная фракция, преимущественно содержащая флавонолгликозиды, несколько меньшую активность – водная фракция, содержащая в том числе полисахариды, и элемент-органическая фракция, представленная хелатным соединением кальция. Остеогенное действие этанольного экстракта *Saussurea controversa* на костную ткань обуславливает комплекс БАС: флавонолгликозиды, полисахариды и органические соединения кальция, входящие в его состав. Биологически активные соединения водной фракции *Fillipendula ulmaria* эффективно стимулируют гемопоэтическую функцию красного костного мозга крыс с модельным остеомиелитом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Цыбин А.А. Новый подход в лечении остеомиелита. Доклады Академии наук. 2008; 419 (3): 425–429. [Tsybin A.A. A new approach to treatment of osteomyelitis. Reports of the Academy of Sciences. 2008; 419 (3): 425–429 (in Russ.)].
2. Шевцов В.И., Попова Л.А., Лапынин А.И. Проблема лечения хронического остеомиелита (обзор литературы). Гений ортопедии. 2009; 1: 116–120. [Shevtsov V.I., Popova L.A., Lapynin A.I. On the problem of chronic osteomyelitis treatment (review of literature). Genius of Orthopedics. 2009; 1: 116–120 (in Russ.)].
3. Aoshima Y., Hasegawa Y., Hasegawa S., Nagasaka A., Kimura T., Hashimoto S., Torii Y., Tsukagoshi N. Isolation of GnafC, a polysaccharide constituent of Gnaphalium affine, and synergistic effects of GnafC and ascorbate on the phenotypic expression of osteoblastic MC3T3-E1 cells. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2003; 67 (10): 2068–2074. DOI: 10.1271/bbb.67.2068.

4. Yamamoto N., Tokuda H., Kuroyanagi G., Kainuma S., Ohguchi R., Fujita K., MatsushimaNishiwaki R., Kozawa O., Otsuka T. Amplification by (-)-epigallocatechin gallate and chlorogenic acid of TNF- α -stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *International Journal of Molecular Medicine*. 2015; 36: 1707–1712. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2381.
5. Xie F., Wu C.-F., Lai W.-P., Yang X.-J., Cheung P.-Y., Yao X.-S., Leung P.-C., Wong M.-S. The osteoprotective effect of Herba epimedii (HEP) extract *in vivo* and *in vitro*. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2005; 2 (3): 353–361. DOI: 10.1093/ecam/neh101.
6. Adluri R.S., Zhan L., Bagchi M., Maulik N., Maulik G. Comparative effects of a novel plant-based calcium supplement with two common calcium salts on proliferation and mineralization in human osteoblast cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2010; 340 (1-2): 73–80. DOI: 10.1007/s11010-010-0402-0.
7. Перевозчикова Т.В., Авдеева Е.Ю., Файт Е.А., Скороходова М.Г., Краснов Е.А. Влияние экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* на иммунологическую реактивность крыс с экспериментальным остеомиелитом. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016; 79 (7): 16–20. [Perevozchikova T.V., Avdeeva E.Yu., Fayt E.A., Skorokhodova M.G., Krasnov E.A. The effect of extracts from *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* on immunological reactivity of rats with experimental osteomyelitis. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2016; 79 (7): 16–20 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2016-79-7-16-20.
8. Avdeeva E.Yu., Krasnov E.A., Shults E.E., Reshetov Y.E. Study element-organic fraction of *Saussurea controversa* DC extract. 12th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds; Tashkent, 2017; September 7–8: 355.
9. Avdeeva E., Shults E., Skorokhodova M., Reshetov Ya., Porokhova E., Sukhodolo I., Krasnov E., Belousov M. Flavonol glycosides from *Saussurea controversa* and their efficiency in experimental osteomyelitis. *Planta Medica International Open*. 2018; 5: e24–29. DOI: 10.1055/s-0044-100799.
10. Шилова И.В., Семенов А.А., Суслов Н.И., Короткова Е.И., Вторушина А.Н., Белякова В.В. Химический состав и биологическая активность фракции экстракта лабазника вязолистного. *Химико-фармацевтический журнал*. 2009; 43 (4): 7–11. [Shilova I.V., Semenov A.A., Suslov N.I., Korotkova E.I., Vtorushina A.N., Belyakova V.V. Chemical composition and biological activity of the *Filipendula ulmaria* extract. *Chemical-pharmaceutical Journal*. 2009; 43 (4): 7–11 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0023-1134-2009-43-4-7-11.
11. Shou D., Zhang Y., Shen L., Zheng R., Huang X., Mao Z., Yu Z., Wang N., Zhu Y. Flavonoids of herba epimedii enhances bone repair in a rabbit model of chronic osteomyelitis. During post-infection treatment and stimulates osteoblast proliferation *in vitro*. *Phytotherapy Research*. 2017; 31 (2): 330–339. DOI: 10.1002/ptr.5755.

Вклад авторов

Авдеева Е.Ю. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Белоусов М.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Суходоло И.В., Порохова Е.Д. – проведение морфологического исследования, анализ данных. Скороходова М.Г. – исследование гемопоэтической функции красного костного мозга. Авдеева Е.Ю., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д. – проведение основных этапов эксперимента.

Authors contribution

Avdeeva E.Yu. – conception and design of the study, drafting of the manuscript. Belousov M.V. – critical revision of important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Sukhodolo I.V., Porokhova E.D. – carrying out of the morphological investigation, analysis of the data. Skorokhodova M.G. – investigation of the hemopoietic function of the bone marrow. Avdeeva E.Yu., Slizovsky G.V., Mushtovatova L.S., Reshetov Ya. E., Ivanov S.D. – carrying out of the key stages of the experiment.

Сведения об авторах

Авдеева Елена Юрьевна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7061-9843.

Скороходова Марина Геннадьевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, СибГМУ, г. Томск.

Суходоло Ирина Владимировна, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии,

Authors information

Avdeeva Elena Yu., PhD, Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7061-9843.

Skorokhodova Marina G., PhD, Division of Pathological Physiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Sukhodolo Irina V., DM, Professor, Head of the Division of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9848-2068.

СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-9848-2068.

Порохова Екатерина Даниловна, студент, медико-биологический факультет СибГМУ, г. Томск.

Слизовский Григорий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских хирургических болезней, СибГМУ, г. Томск.

Муштоватова Людмила Степановна, канд. биол. наук, доцент, кафедра микробиологии и вирусологии, СибГМУ, г. Томск.

Решетов Ярослав Евгеньевич, аспирант, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-9624-8013.

Иванов Станислав Дмитриевич, ординатор, кафедра детских хирургических болезней, СибГМУ, г. Томск.

Белосов Михаил Валерьевич, д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск.

(✉) **Авдеева Елена Юрьевна**, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru.

Porokhova Ekaterina D., Division of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Slizovsky Grigoriy V., DM, Professor, Division of Pediatric Surgical Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Mushtovatova Ludmila S., PhD, Division of Microbiology and Virology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Reshetov Yaroslav E., Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Ivanov Stanislav D., Division of Pediatric Surgical Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9624-8013.

Belousov Mikhail V., DM, Professor, Head of the Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Avdeeva Elena Yu.**, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru.

Received 16.05.2018

Accepted 27.03.2019

Поступила в редакцию 16.05.2018

Подписана в печать 27.03.2019