

УДК 616.71-018.46-002-021.6:615.322.015.4:[582.711+582.998.1]

DOI 10.20538/1682-0363-2016-2-5-12

БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ *SAUSSUREA CONTROVERSA* DC. И *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОМИЕЛИТЕ

Авдеева Е.Ю.¹, Сапрыкина Э.В.¹, Слизовский Г.В.¹, Краснов Е.А.¹, Степанов М.Ю.¹, Пехенько В.Г.²

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Институт физики прочности и материаловедения (ИФПМ) СО РАН, г. Томск

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать влияние сухих экстрактов *Saussurea controversa* DC. и *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. при экспериментальном остеомиелите на фоне применения цефазолина у крыс.

Материал и методы. После курсового введения экстрактов в дозе 100 мг/кг на фоне антибиотикотерапии наблюдается локализация воспалительного процесса, тогда как у животных, получавших только цефазолин, воспаление приобретает разлитой характер. В условиях комплексной терапии в сыворотке крови достоверно снижается содержание диеновых конъюгатов, а в мышечной ткани зоны поражения – ТБК-активных продуктов, общих липидов и лизофосфатидилхолина в отличие от монотерапии цефазолином. При применении экстрактов *S. controversa* нормализуется уровень диацилглицеридов и фосфатидилхолина, а при применении экстракта *F. ulmaria* – свободного холестерина в мышечной ткани зоны поражения в сравнении с группой животных, леченных только цефазолином.

Результаты. Применение водно-этанольного экстракта *S. controversa* на фоне антибиотикотерапии способствует снижению активности кислой и щелочной фосфатаз в сыворотке крови, что может влиять на усиление репаративных процессов в костной ткани.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Saussurea controversa* DC., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., сухие экстракты, экспериментальный остеомиелит, биохимические исследования.

Введение

Диагностика и лечение остеомиелита представляет собой актуальную проблему. Часто течение заболевания сопровождается развитием тяжелых форм, септических осложнений, переходом в хроническую форму с нарушением функции конечности и ее деформации [1, 2]. Несмотря на то что остеомиелит начинается как локальный воспалительный процесс, он приводит к поражению паренхиматозных органов и сопровождается развитием метаболических расстройств [3, 4]. Уже в первые дни заболевания выявляются изменения в липидном спектре крови и угнетение белоксинтезирующей функции печени [5]. В ре-

зультате изучения процессов липопероксидации при остром остеомиелите отмечено, что степень мембранодеструктивных процессов определяет тяжесть течения заболевания и зависит от антиоксидантной защиты организма [6, 7]. Исследователи выявили, что в острой стадии заболевания происходит достоверное изменение показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы, а в динамике комплексной патогенетической терапии – их нормализация [8].

Ранее нами выявлена положительная динамика в развитии остеомиелита у крыс при применении экстрактов сосюреи спорной (*Saussurea controversa* DC.) и лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) [9]. Цель настоящего исследования – изучить влияние экстрактов сосюреи

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

спорной и лабазника вязолистного на активность кислой и щелочной фосфатаз, процессы перекисного окисления липидов и липидный спектр в сыворотке крови и мышечной ткани зоны поражения в комплексной терапии экспериментального остеомиелита.

Материал и методы

В качестве объектов исследования использовали надземные части *S. controversa* и *F. ulmaria*, собранные в июле 2013 г. (фаза цветения) в местах естественного произрастания в Иркутской (с. Кочергат) и Томской (с. Межениновка) областях. Воздушно-сухой растительный материал с влажностью $(6,3 \pm 0,1)\%$ измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2–4 мм. Экстракты растений получали путем обработки сырья 70%-м (*F. ulmaria*), 40%-м водным этанолом и водой (*S. controversa*) трижды при температуре 80 °С на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечения объединяли, фильтровали и концентрировали под вакуумом досуха при температуре не выше 50 °С. Выход сухого остатка составлял для *F. ulmaria* 32%, а для экстрактов *S. controversa*, полученных при обработке 40%-м этанолом и водой, соответственно 30 и 37%.

Эксперименты выполняли на 36 белых крысах-самках линии Вистар массой 280–300 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. При проведении экспериментов руководствовались принципами, изложенными в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинской декларации.

Крыс распределяли на шесть групп: интактные (1); с экспериментальным остеомиелитом, нелеченные (2); с экспериментальным остеомиелитом, леченные антибиотиком широкого спектра цефазолином (3); с экспериментальным остеомиелитом, леченные водным экстрактом *S. controversa* и антибиотиком (4); с экспериментальным остеомиелитом, леченные экстрактом *S. controversa* на 40%-м этаноле и антибиотиком (5); с экспериментальным остеомиелитом, леченные экстрактом *F. ulmaria* на 70%-м этаноле и антибиотиком (6).

Для развития заболевания крыс 2–6 групп предварительно сенсибилизировали путем внутрибрюшинного введения ослабленной нагреванием культуры слабовирулентного золотистого стафилококка. Сенсибилизацию проводили трехкратно с постепенным увеличением дозы через каждые 3 сут (1, 2, 3 млн бактериальных тел). Затем в стерильных условиях под наркозом (золетил, 10 мг/кг) через дистальный метафиз правой бедренной кости в костно-мозговой канал

вводили 6 млн бактериальных тел активного стафилококка [10].

Экстракты *S. controversa* и *F. ulmaria* вводили животным соответствующих групп в желудок в виде водной суспензии в дозе 100 мг/кг на 2-е сут после проведения операции в течение 14 сут. Животным 3–6 групп внутримышечно вводили антибиотик цефалоспориновой группы цефазолин («Рузфарма», Россия) в дозе 50 мг/кг в течение 5 сут.

На 15-е сут животных выводили из эксперимента при использовании CO_2 -асфиксии.

Для изучения отдельных биохимических механизмов в сыворотке крови и окружающей мышечной ткани пораженной конечности исследовали показатели ПОЛ – содержание диеновых конъюгатов (ДК) [11], ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) [12], активность каталазы [13] и антирадикальную активность (АРА) [14].

В сыворотке крови и мышечной ткани зоны поражения определяли общие липиды (ОЛ), общие фосфолипиды (ОФЛ) [15,16] – в липидном экстракте, полученном методом Folch and all [17]. Кроме того, в мышечной ткани исследовали фракционный состав ОЛ и ОФЛ методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (Чехия) с достоверными образцами нейтральных липидов и фосфолипидов в системах растворителей гептан – эфир – этилацетат (80 : 20 : 1,5) и хлороформ – метанол – аммиак (65 : 25 : 5) соответственно, с последующей детекцией 2%-м этанольным раствором фосфорно-молибденовой кислоты (105 °С, 5–10 мин). Затем пластинки сканировали и обрабатывали в программе Chromolizer V.1,0 Alpha.

Активность кислой (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), показатели повреждения костной ткани определяли в сыворотке крови с помощью диагностических наборов фирмы «Ольвекс диагностика» (Россия).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ статистического анализа Statistica 8.0. Для оценки значимости отличий между выборками использовали непараметрический критерий Манна – Уитни с вычислением среднего арифметического значения M и его стандартной ошибки m . Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Известно, что воздействие патогенных факторов, вызывающих альтерацию, приводит к нарушению оптимального соотношения функциональной активности прооксидантных и антиоксидантных систем, что сопровождается увеличением

интенсивности свободнорадикального окисления мембранных фосфолипидов [18]. Проведенные нами биохимические исследования показали, что во второй группе животных, не получавших лечения после развития остеомиелита, в сыворотке крови и мышечной ткани зоны поражения конечности установлена интенсификация процессов ПОЛ. Уровень ДК увеличивался на 8% в сыворотке и 24% в мышечной ткани зоны поражения по сравнению со здоровой группой крыс (группа 1). При этом более существенно повышалось содержание ТБК-АП, обладающих выраженной цитотоксичностью: свыше 67% и 141% соответственно. В то же время уровень АРА имел тенденцию к снижению. Наряду с этим активность антиоксидантного фермента каталазы, входящего в систему антиокислительной защиты, статистически достоверно повысилась, однако активация данного энзима была не достаточна для обеспечения снижения инициации ПОЛ. На этом фоне у животных в группе 2 отмечалось достоверное увеличение количества ЩФ, указывающей на состояние костного метаболизма. Уровень ее повысился более, чем на 31%, а высвобождение лизосомального фермента КФ, потенцирующего радикал-индуцируемые клеточные повреждения, — на 21%, что дает возможность предположить наличие остеомиелитической деструкции костной ткани. Клиническая картина также подтвердила последнее предположение. На 2-е сут после проведения операции у животных 2–6 групп наблюдали малоподвижность, щадящее положение конечности, которые сохранялись на протяжении всего эксперимента в группе 2. К 10-м сут у всех крыс группы 2 появились боль при пальпации, увеличение коленного сустава в 2–3 раза по сравнению со здоровой конечностью, симптомы разлитого воспаления окружающих тканей.

У животных группы 3 после терапии цефазолином выявлено снижение концентрации ТБК-АП более, чем на 31% в сыворотке крови и ДК — на 25% в мышечной ткани зоны поражения в сравнении с группой 2. В этих же условиях активность ЩФ уменьшилась на 18%. Однако уровень ДК и КФ в сыворотке крови продолжал оставаться повышенным как при сравнении с группой 1, так и с группой 2, не получавшей лечения. Кроме того, к 10-м сут эксперимента у пяти животных группы 3 отмечали расхождение краев раны, серозное, а затем гнойное отделяемое.

При применении водного экстракта *S. controversa* на фоне антибиотикотерапии (группа 4) наблюдали снижение процессов ПОЛ. Содержание ДК уменьшилось на 25% в сыворотке крови по

сравнению с нелечеными животными и на 32% по сравнению с животными, получавшими только антибиотикотерапию. Еще в большей степени снизилось содержание ТБК-активных продуктов (более, чем на 50% в сыворотке крови) в сравнении с группой 2. Уровень ДК и ТБК-АП в мышечной ткани зоны поражения приблизился к величинам, полученным в интактной группе. В группе 4 отмечалась тенденция к повышению активности ЩФ и КФ, что возможно связано с некоторой воспалительной реакцией в фазу репаративной регенерации. В то же время к 10-м сут эксперимента у четырех животных в группе 4 воспаление локализовалось в виде инкапсулированных абсцессов в области правой бедренной кости, а у двух рана затягивалась.

Наиболее положительная динамика в исследуемых показателях выявлена в группе 5 после терапии остеомиелита экстрактом *S. controversa* на 40%-м этаноле в комплексе с антибиотиком. Так содержание ДК уменьшилось как в сыворотке крови (на 32%), так и в мышечной ткани зоны поражения (на 28%) в сравнении с группой 2. Уровень ТБК-активных продуктов в сыворотке крови уменьшился на 45% в сравнении с группой 2 и существенно не отличался от полученного в интактной группе крыс, в мышечной ткани количество их имело лишь тенденцию к повышению. Активность ферментов каталазы, ЩФ, КФ находилась в пределах величин, характерных для здоровых животных. При этом необходимо подчеркнуть, что активность ЩФ и КФ имела самые низкие величины при сопоставлении с другими группами крыс. Улучшение наблюдали и в клинической картине животных группы 5, где у двух животных образовались абсцессы, а у четырех происходило заживление раны.

В группе 6 после применения экстракта *F. ulmaria* на фоне антибиотикотерапии выявлена в основном аналогичная направленность изменений в изученных показателях. При этом содержание ДК снизилось на 43% в сыворотке крови и на 26% в мышечной ткани зоны поражения в сравнении с группой 2 (табл. 1). Уровень ТБК-АП в сыворотке крови снизился на 33%, а в мышечной ткани имел тенденцию к снижению. Достоверно уменьшилась активность ЩФ (более, чем на 21%). К 10-м сут эксперимента в группе 6 рана заживала у четырех животных, у одного формировался абсцесс, и у одного животного наблюдалось расхождение краев раны.

Как видно из табл. 1, развитие остеомиелитического процесса сопровождалось интенсификацией процессов ПОЛ, снижением антирадикальной защиты, повышением уровня сывороточных

Т а б л и ц а 1

Показатели ПОЛ в сыворотке крови и мышечной ткани зоны поражения после терапии экспериментального остеомиелита ($M \pm m$)								
Группа	ДК		ТБК-АП, ммоль/л		Каталаза, мкм/сек·мл	АРА, %	ЩФ, МЕ/л	КФ, нмоль/сек·л
	в сыворотке крови, УЕ/мл	в ткани, УЕ/г	в сыворотке крови	в ткани				
1	2,34 ± 0,29	10,00 ± 0,27	0,34 ± 0,04	1,33 ± 0,50	0,29 ± 0,04	107,47 ± 5,42	118,74 ± 8,44	156,50 ± 21,74
2	2,53 ± 0,18 ¹	12,37 ± 0,50 ¹	0,57 ± 0,09 ¹	3,21 ± 0,90 ¹	0,36 ± 0,03 ¹	96,36 ± 5,74	156,23 ± 8,93 ¹	190,0 ± 5,89 ¹
3	2,7 ± 0,26 ¹	9,30 ± 0,71 ²	0,39 ± 0,09	3,98 ± 0,73 ¹	0,31 ± 0,09	97,54 ± 3,33	127,60 ± 5,30 ²	206,75 ± 16,43 ¹
4	1,90 ± 0,16 ^{2,3}	10,07 ± 0,87 ²	0,28 ± 0,08 ²	2,02 ± 0,77	0,29 ± 0,09	100,62 ± 0,58	147,60 ± 9,92	200,00 ± 19,22
5	1,72 ± 0,15 ^{2,3}	8,85 ± 0,76 ²	0,3 ± 0,09 ²	3,03 ± 0,69	0,31 ± 0,06	102,65 ± 6,23	122,02 ± 5,16 ²	164,7 ± 14,12 ^{2,3}
6	1,45 ± 0,09 ^{2,3}	9,10 ± 0,62 ²	0,38 ± 0,03 ²	2,60 ± 0,82	0,29 ± 0,07	104,61 ± 8,46	123,20 ± 9,90 ²	–

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2–4: $n = 6$; $p \leq 0,05$ в сравнении с группами 1, 2, 3 соответственно.

ферментов, характеризующих состояние костного метаболизма. Применение антибиотикотерапии в некоторой степени способствовало улучшению данных показателей, но в то же время сохранялся высокий уровень ДК, начальных продуктов процессов липопероксидации в сыворотке крови и ТБК-АП в мышечной ткани зоны поражения. При применении экстрактов исследуемых растений наряду с антибиотиком достоверно снизилась концентрация ДК в сыворотке крови, а ТБК-АП имела тенденцию к снижению по сравнению с группой 3. Достоверное уменьшение активности ЩФ и КФ по сравнению с группами 2 и 3 соответственно при применении экстракта *S. controversa* на 40%-м этаноле, возможно, указывает на благоприятную динамику в этих условиях и, вероятно, содержащиеся в нем биологически активные вещества, в частности флавонолгликозиды, способствовали репаративным процессам в костной ткани. Как известно, флавоноиды являются мощным ингибитором синтеза лейкотриенов и активных радикалов кислорода.

Активирование свободнорадикальных процессов при воспалении влечет за собой повреждение клеточных мембран, в результате чего могут изменяться структура, состав и функции мембранных липидов. К тому же окисленные формы фосфолипидов играют важную роль в развитии многих патологических процессов [19].

Результаты исследований показали, что в сыворотке крови животных с экспериментальным остеомиелитом в группе 2 существенно (на 85%) увеличилось содержание ОФЛ (табл. 2). В то время как в группе 3 наблюдали достоверное снижение этого показателя. При применении водного экстракта *S. controversa* на фоне антибиотикотерапии (группа 4) уровень ОФЛ в сыворотке крови уменьшился на 41%, а в условиях применения экстракта *F. ulmaria* – на 45%. При этом существенного изменения ОЛ в сыворотке крови животных не наблюдали.

Т а б л и ц а 2

Липидный спектр сыворотки крови крыс после терапии экспериментального остеомиелита ($M \pm m$), г/л		
Группа	ОЛ	ОФЛ
1	4,10 ± 0,61	0,79 ± 0,13
2	3,9 ± 0,51	1,46 ± 0,18 ¹
3	3,90 ± 0,51	0,47 ± 0,06 ²
4	4,5 ± 0,82	0,86 ± 0,12 ²
5	4,26 ± 0,72	1,10 ± 0,10
6	4,01 ± 0,58	0,80 ± 0,07 ²

В то же время при исследовании липидных показателей в мышечной ткани зоны поражения получены несколько иные результаты. У крыс в группе 2 после развития остеомиелита содержание ОЛ увеличивалось более, чем на 74% по сравнению с интактными животными. Указанные сдвиги обусловлены в основном накоплением количества диацилглицеридов (ДАГ), которые преобладали над уровнем триацилглицеридов (ТАГ), что может свидетельствовать о деструктивных процессах мышечной ткани зоны поражения.

У животных с остеомиелитом после терапии цефазолином (группа 3) концентрация ОЛ несколько снизилась при сопоставлении с крысами, не получавшими лечения (группа 2), но осталась высокой по сравнению с интактными животными из-за повышения ДАГ на фоне снижения уровня ТАГ. Уровень свободного холестерина (СХ) у животных с остеомиелитом, в том числе после применения антибиотика, превышал таковой в группе интактных животных.

Наибольший интерес, на наш взгляд, представляют результаты, полученные у животных с остеомиелитом после применения растительных экстрактов на фоне антибиотикотерапии. Так в группах 4 и 5 при применении экстрактов *S. controversa* на фоне антибиотикотерапии установлено достоверное снижение уровня ОЛ в мышечной ткани зоны поражения в среднем на 33% по отношению к группе 2 (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Уровень общих липидов и их отдельных ингредиентов в мышечной ткани зоны поражения после терапии остеомиелита у крыс ($M \pm m$), мг/г				
Группа	ОЛ	СХ	ДАГ	ТАГ
1	11,16 ± 0,84	2,71 ± 0,23	3,51 ± 0,65	5,91 ± 0,79
2	19,43 ± 0,85 ¹	4,12 ± 0,50 ¹	9,90 ± 0,65 ¹	5,92 ± 0,60
3	16,59 ± 1,07 ¹	4,14 ± 0,39 ¹	7,74 ± 0,90	4,36 ± 0,99
4	12,72 ± 0,42 ²	3,18 ± 0,70	4,96 ± 0,96 ^{2,3}	5,93 ± 0,85
5	13,27 ± 0,97 ²	3,45 ± 0,22	4,55 ± 0,61 ^{2,3}	5,27 ± 0,55
6	11,40 ± 0,35 ²	2,73 ± 0,60 ^{2,3}	5,24 ± 0,98 ²	3,91 ± 0,73

При этом соотношение уровня ДАГ к ТАГ изменялся в сторону увеличения последнего, а также наблюдалась тенденция к снижению уровня СХ, что может свидетельствовать о регрессе деструктивных процессов в мышечной ткани зоны поражения в данных условиях. При применении экстракта *F. ulmaria* на фоне антибиотикотерапии установлено снижение количества ОЛ до значений интактной группы за счет достоверного снижения уровня СХ и ДАГ по отношению к группе 2, хотя преобладание уровня ДАГ над ТАГ в некоторой степени сохранялось.

Следующим направлением наших исследований явилось изучение отдельных фосфолипидных ингредиентов, которые являются не только обязательными структурными компонентами мембран клеток, но и участвуют в процессах рецепции, трансформации и аккумуляции энергии, трансмембранной передаче сигналов и др.

У животных с экспериментальным остеомиелитом (группа 2) содержание ОФЛ имело тенденцию к повышению, однако при исследовании отдельных компонентов были выявлены определенные межфракционные изменения. При этом наиболее существенно в 3,7 раза возрастал уровень лизофосфатидилхолина (ЛФХ), а также – сфингомиелина (СМ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) в 1,8 и 1,5 раза соответственно (табл. 4). Наряду с этим содержание фосфатидилхолина (ФХ), основного компонента клеточных мембран, уменьшалось в 1,2 раза, а уровень фосфатидилинозита (ФИ) существенно не изменялся. Значительное повышение уровня ЛФХ и уменьшение такового ФХ указывает не только на активацию фосфолипазы А₂, но и не исключено нарушение ацилирования ЛФХ в ФХ, что приводит к данным сдвигам.

В третьей группе животных после терапии цефазолином наблюдалась направленность к уменьшению уровня ЛФХ, достоверно снижалось содержание СМ по сравнению с группой 2. При применении экстрактов *S. controversa* на фоне антибиотикотерапии (группа 4 и 5) достоверно в 3,2 раза снижался уровень ЛФХ по сравнению с нелечеными животными и существенно не отличался от величин в интактной группе, кроме того, наблюдали снижение уровня СМ в среднем в 1,5 раза. В условиях применения экстракта *F. ulmaria* на фоне антибиотикотерапии уровень ЛФХ и СМ снижался до значений интактной группы (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Уровень общих фосфолипидов и их отдельных ингредиентов в мышечной ткани зоны поражения после терапии остеомиелита у крыс ($M \pm m$), мг/г						
Группа	ОФЛ	ЛФХ	ФИ	СМ	ФХ	ФЭ
1	1,28 ± 0,18	0,032 ± 0,008	0,140 ± 0,054	0,121 ± 0,008	0,588 ± 0,064	0,307 ± 0,018
2	1,41 ± 0,55	0,119 ± 0,033 ¹	0,141 ± 0,069	0,221 ± 0,016 ¹	0,479 ± 0,024 ¹	0,472 ± 0,011 ¹
3	1,23 ± 0,15	0,049 ± 0,017	0,130 ± 0,020	0,126 ± 0,025 ²	0,409 ± 0,011 ¹	0,459 ± 0,014 ¹
4	1,38 ± 0,14	0,037 ± 0,017 ²	0,145 ± 0,036	0,155 ± 0,029	0,547 ± 0,028 ^{2,3}	0,441 ± 0,012 ¹
5	1,46 ± 0,16	0,036 ± 0,009 ²	0,140 ± 0,053	0,148 ± 0,008 ²	0,622 ± 0,035 ^{2,3}	0,491 ± 0,023 ¹
6	1,23 ± 0,06	0,025 ± 0,012 ²	0,131 ± 0,047	0,123 ± 0,012 ²	0,482 ± 0,061	0,384 ± 0,047

Представленные результаты свидетельствуют, что развитие воспалительного процесса при остеомиелите приводит к изменениям количественного и качественного состава липидов. При монотерапии антибиотиком в мышечной ткани зоны поражения остается высоким уровень ОЛ и СХ, а повышение уровня ДАГ на фоне снижения количества ТАГ может свидетельствовать о сохранении деструктивного процесса. Положительную динамику может характеризовать достоверное снижение уровня ОФЛ в сыворотке крови и СМ в

мышечной ткани зоны поражения. Но в то же время остается пониженным уровень ФХ, не наблюдается достоверного снижения уровня ЛФХ. Положительная динамика наблюдается при терапии экстрактами *S. controversa* и *F. ulmaria* на фоне применения антибиотика в отличие от монотерапии: достоверно снижается уровень ОЛ и ЛФХ. При применении экстрактов *S. controversa* нормализуется уровень ФХ и ДАГ, а при применении экстракта *F. ulmaria* – СХ в сравнении с группой животных, леченных только цефазолином.

Заключение

Применение экстрактов *S. controversa* и *F. ulmaria* на фоне терапии цефазолином способствует регрессу и локализации воспалительного процесса у животных с экспериментальным остеомиелитом, тогда как у животных, получавших только антибиотикотерапию, воспаление приобретает разлитой характер.

При применении экстрактов исследуемых растений наряду с антибиотиком достоверно снижается содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови и ТБК-активных продуктов в мышечной ткани зоны поражения в отличие от монотерапии цефазолином.

Использование в комплексной терапии экспериментального остеомиелита экстрактов *S. controversa* и *F. ulmaria* способствует достоверному снижению уровня липидов в мышечной ткани зоны поражения. При применении экстрактов *S. controversa* нормализуется уровень диацилглицеридов, фосфатидилхолина и лизофосфатидилхолина, а при применении экстракта *F. ulmaria* – лизофосфатидилхолина и свободного холестерина в мышечной ткани зоны поражения в сравнении с группой животных, леченных только цефазолином.

Применение экстракта *S. controversa* на 40%-м этаноле на фоне антибиотикотерапии способствует достоверному уменьшению активности кислой и щелочной фосфатаз, что активизирует репаративные процессы в костной ткани.

Конфликт интересов

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

Литература

- Bobndorf K., Bübne K.-H. Osteomyelitis // Handbuch diagnostische Radiologie. 2005. P. 1–80. Available at: <http://link.springer.com/book/10.1007/b137524> (accessed 20 June 2015).
- Davis J.S. Menagement of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus* // Intern. Medicine J. 2005. № 35. P. 79–96. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10856-013-5125-9> (accessed 20 June 2015).
- Батаков Е.А., Алексеев Д.Г., Батаков В.Е. Современные аспекты диагностики и лечения хронического остеомиелита. Самара: Медицина, 2008. 117 с.
- Alvarez H., Castro C., Mouji L., Perera A., Delgado A., Soriano I., Evora C., Sanchez E. Efficacy of ciprofloxacin implants in treating experimental osteomyelitis // Journal of Biomed. Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2008. V. 85B, № 1. P. 93–104. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.v85b1/issuetoc>
- Акжигитов Г.Н., Юдин. Я.Б. Гематогенный остеомиелит. М.: Медицина, 1998. 288 с.
- Матузов С.А. Лечение хронического травматического остеомиелита с применением антиоксидантов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 1997. 27 с.
- Suda Tekin Koruk, Nurten Aksoy, Melek Hamidanoglu, Hasan Karsen, Sebnem Unlu, Hasan Bilinc. The activity of paraoxonase and arylesterase in patients with osteomyelitis // Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2012. V. 72, № 7. P. 513–517. Available at: <http://www.tandfonline.com/toc/iclb20/72/7> (accessed 20 June 2015).
- Султонов Ш.Р., Азизов А.А., Сабурова А.М. Динамика процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты при хроническом гематогенном остеомиелите у детей // Докл. Акад. наук Респ. Таджикистан. 2009. Т. 52. № 9. С. 723–727.
- Авдеева Е.Ю., Зоркальцев М.А., Завадовская В.Д., Слизовский Г.В., Краснов Е.А., Пехенько В.Г., Степанов М.Ю. Исследование активности экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите с помощью трехфазной сцинтиграфии // Бюлл. сибир. мед. 2015. Т. 14, № 3. С. 5–9.
- Авдеева Е.Ю., Слизовский Г.В., Сороходова М.Г., Фомина Т.И., Зоркальцев М. А., Иванов В.В., Краснов Е.А. Способ моделирования травматического остеомиелита // Заявка на изобретение № 2015(109516) от 18.03.2015.
- Косухин А.Б., Ахметова Б.С. Экстракция липидов смесью гептан-изопропанол для определения диеновых конъюгатов // Лабораторное дело. 1987. № 5. С. 335–337.
- Schmitz J.B., Ingerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelet // J. Lab. Clin. Med. 1976.V. 88, № 1. P. 167–172. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02967089> (accessed 20 June 2015).
- Чеvari С., Андял Т., Штфенгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. 1991. № 10. С. 638–641.
- Scherer R., Godoy H.T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method // Food Chem. 2009. V. 112, № 3. P. 654–658.
- Камышников В.С. Техника лабораторных работ в медицинской практике. М.: Медпресс-информ, 2013. 344 с.
- Таранова Н.А., Говорова Л.В. Определение общих липидов в липидном экстракте, полученном из сыворотки крови // Вопросы мед. химии. 1987. № 2. С. 132–136.
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. № 1. P. 497–509.
- Wallgren M., Beranova L., Linh Kh., Lidman M., Procek J., Cyprych K., Hof M., Gröbner G. Impact of oxidized phospholipids on the structural and dynamic organization of phospholipid membranes: a combined DSC and solid state NMR study // Faraday Discussions. 2013. V. 161, № 10. P. 499–513. Available at: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/fd/c2fd20089a> (accessed 20 June 2015).
- Thomas M. Bioactive Oxidatively Truncated Phospholipids in Inflammation and Apoptosis: Formation, Targets, and Inactivation // Biochim. Biophys. Acta. 2013. № 24. P. 56–64.

Поступила в редакцию 25.06.2015 г.

Утверждена к печати 15.03.2016 г.

Авдеева Елена Юрьевна (✉) – канд. фарм. наук, ст. преподаватель кафедры фармацевтической химии СибГМУ (г. Томск).
Сапрыкина Элеонора Васильевна – канд. биол. наук, ст. научный сотрудник биохимического сектора Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск).

Слизовский Григорий Владимирович – канд. мед. наук, зав. кафедрой детских хирургических болезней СибГМУ (г. Томск).

Краснов Ефим Авраамович – д-р фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической химии СибГМУ (г. Томск).

Степанов Михаил Юрьевич – интерн кафедры детских хирургических болезней СибГМУ (г. Томск).

Пехенько Владимир Григорьевич – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник ИФПМ СО РАН (г. Томск).

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

СибГМУ, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: office@ssmu.ru, тел. (382-2)-90-11-01.

Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, 634055, г. Томск, пр. Академический, д. 2/4, e-mail: root@ispms.tomsk.ru, тел. (382-2)-49-21-25.

STUDY OF BIOCHEMICAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *SAUSSUREA CONTROVERSA* DC. AND *FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM. IN EXPERIMENTAL OSTEOMYELITIS

Avdeeva E.Yu.¹, Saprykina E.V.¹, Slizovsky G.V.¹, Krasnov E.A.¹, Pechenko V.G.²

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Institute of Strength Physics and Materials Science SB RAS, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. The influence of dry extracts of *Saussurea controversa* DC. and *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. in experimental osteomyelitis with the use of cefazolin in rats.

Materials and methods. After a course of therapy extracts at a dose of 100 mg/kg on the background of antibiotic therapy observed localization of the inflammatory process, whereas animals receiving only Cefazolin becomes diffuse inflammation. In the conditions of complex therapy the level of diene conjugates significantly reduces in the serum and the level of TBA-active products, total lipids and lysophosphatidylcholine reduces in the muscle tissue of the affected area. In the application of extracts of *S. controversa* returns to normal level of diacylglycerides and phosphatidylcholine, and the application of the extract of *F. ulmaria* – free cholesterol in comparison with the group of animals treated only with cefazolin.

Results. In the application of water-ethanol extract of *S. controversa* with simultaneous intramuscular cefazolin marked decrease in the activity of acid and alkaline phosphatase that can enhance reparative processes in the bone tissue.

KEY WORDS: *Saussurea controversa* DC., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., dry extracts, experimental osteomyelitis, biochemical research.

Bulletin of Siberian Medicine, 2016, vol. 15, no. 2, pp. 5–12

Referense

1. Bohndorf K., Böhne K.-H. *Osteomyelitis. Handbuch diagnostische Radiologie*, 2005, ss. 1–80. Available at: <http://link.springer.com/book/10.1007/b137524> (accessed 20 June 2015).
2. Davis J.S. Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern. Medicine J.*, 2005, no. 35, pp. 79–96. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10856-013-5125-9> (accessed 20 June 2015).
3. Batakov E.A., Alekseev D.G., Batakov V.E. *Sovremennyye aspekty diagnostiki i lecheniya bronicheskogo osteomiel-*

- ita* [Modern aspects of diagnosis and treatment of chronic osteomyelitis]. Samara: Medicina. Samara, Medicina Publ., 2008. 117 p. (in Russian).
4. Alvarez H., Castro C., Mouji L., Perera A., Delgado A., Soriano I., Evora C., Sanchez E. Efficacy of ciprofloxacin implants in treating experimental osteomyelitis // Journal of Biomed. Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2008. V. 85B, № 1. P. 93–104. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.v85b1/issuetoc>
 5. Akzhigitov G.N., Yudin. Ya.B. *Gematogennyj osteomielit* [Hematogenous osteomyelitis]. Moscow, Medicina Publ., 1998, 288 p. (in Russian).
 6. Matuzov S.A. *Lechenie bronicheskogo travmaticheskogo osteomielita s primeneniem antioksidantov. Avtoref. Dis. doct. med. nauk* [Treatment of chronic traumatic osteomyelitis with use of antioxidants. Diss. Dr. med. sci.]. Irkutsk, 1997. 27 p.
 7. Suda Tekin Koruk, Nurten Aksoy, Melek Hamidanoglu, Hasan Karsen, Sebnem Unlu, Hasan Bilinc. The activity of paraoxonase and arylesterase in patients with osteomyelitis // Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2012. V. 72, № 7. P. 513–517. Available at: <http://www.tandfonline.com/toc/iclb20/72/7> (accessed 20 June 2015).
 8. Sulstonov Sh.R., Azizov A.A., Saburova A.M. Dinamika processov perekisnogo okisleniya lipidov i antioksidantnoj sistemy zashchity pri hronicheskom gematogennom osteomielite u detej [Dynamics of processes of lipid peroxidation and the antioxidant defense system in chronic hematogenous osteomyelitis in children]. *Doklady Akademii nauk Respubliki Tadjikistan – Reports of the Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan*, 2009, vol. 52, no. 9, pp. 723–727 (in Russian).
 9. Avdeeva E.Yu., Zorkal'cev M.A., Zavadovskaya V.D., Slizovskij G.V., Krasnov E.A., Pekhen'ko V.G., Stepanov M.Yu. Scintigraficheskoe issledovanie aktivnosti ehkstraktov *Saussurea controversa* i *Fillipendula ulmaria* pri ehksperimental'nom osteomielite [The study of the activity extracts from *Saussurea controversa* and *Fillipendula ulmaria* in experimental osteomyelitis with three-phase scintigraphy]. *Byulleten sibirskoj mediciny – Bulletin of Siberian medicine*, 2015, no. 3, pp. 5–9 (in Russian).
 10. Avdeeva E.Yu., Slizovskij G.V., Sorohodova M.G., Fomina T.I., Zorka'cev M. A., Ivanov V.V., Krasnov E.A. Sposob modelirovaniya travmaticheskogo osteomielita [Method of simulation of traumatic osteomyelitis]. *Zayavka na izobretenie – The invention application*, № 2015(109516) from 18.03.2015 (in Russian).
 11. Kosuhin A.B., Ahmetova B.S. Ekstrakciya lipidov smes'yu geptan-izopropanol dlya opredeleniya dienovyh kon'yugatov [Extraction of lipids with a mixture of heptane-isopropanol to determine diene conjugates]. *Laboratornoe delo – Laboratory work*, 1987, no. 5, pp. 335–337 (in Russian).
 12. Schmitz J.B., Ingerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelet // J. Lab. Clin. Med. 1976.V. 88, № 1. P. 167–172. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02967089> (accessed 20 June 2015).
 13. Chevare C., Andyal T., Shtrenger YA. Opredelenie antioksidantnyh parametrov krovi i ih diagnosticheskoe znachenie v pozhilom vozraste [Determination of antioxidant parameters of blood and their diagnostic value in old age]. *Laboratornoe delo – Laboratory work*, 1991, no. 10, pp. 638–641 (in Russian).
 14. Scherer R., Godoy H.T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method // Food Chem. 2009. V. 112, № 3. P. 654–658.
 15. Kamyshnikov V.S. *Tekhnika laboratornyh rabot v medicinskoj praktike* [The Technique of laboratory work in medical practice]. Moscow, Medpress-inform Publ., 2013, 344 p. (in Russian).
 16. Taranova N.A., Govorova L.V. Opredelenie obshchih lipidov v lipidnom ehkstrakte, poluchennom iz syvorotke krovi [Determination of total lipids in the lipid extract obtained from the serum]. *Voprosy medicinskoj bimii – Problems of Medical Chemistry*, 1987, no. 2, pp. 132–136 (in Russian).
 17. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. № 1. P. 497–509.
 18. Wallgren M., Beranova L., Linh Kh., Lidman M., Procek J., Cyprych K., Hof M., Gröbner G. Impact of oxidized phospholipids on the structural and dynamic organization of phospholipid membranes: a combined DSC and solid state NMR study // Faraday Discussions. 2013. V. 161, № 10. P. 499–513. Available at: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/fd/c2fd20089a> (accessed 20 June 2015).
 19. Thomas M. Bioactive Oxidatively Truncated Phospholipids in Inflammation and Apoptosis: Formation, Targets, and Inactivation // Biochim. Biophys. Acta. 2013. № 24. P. 56–64.

Avdeeva Yelena Yu. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Saprykina Eleanor V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Slizovsky Grigoriy V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Krasnov Yefim A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Stepanov Mikhail Yu., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Pekhenko Vladimir G., Institute of Strength Physics and Materials Science SB RAS, Tomsk, Russian Federation.

✉ Avdeeva Yelena Yu., e-mail: elenaavdeev@yandex.ru

Siberian State Medical University, 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, e-mail: office@ssmu.ru, ph. (382-2)-90-11-01.

Institute of Strength Physics and Materials Science SB RAS, 2/4, Akademichesky Av., Tomsk, 634055, e-mail: root@ispms.tomsk.ru, ph. (382-2)-49-21-25.