

13. Shanmugam N.K., Ellenbogen S., Trebicka E. [et al.]. Tumor necrosis factor α inhibits expression of the iron regulating hormone hepcidin in murine models of innate colitis // *PLoS One*. 2012. Vol. 7. e38136. doi: 10.1371/journal.pone.0038136.
14. Steinmetz T., Totzke U., Schweigert M. [et al.]. A prospective observational study of anaemia management in cancer patients - results from the German Cancer Anaemia Registry // *European Journal of Cancer Care*. 2011. Vol. 20, No. 4. P. 493–502.
15. Weiss G. Iron metabolism in the anemia of chronic disease // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009. Vol. 1790, No. 7. P. 682–693.

Поступила в редакцию 28.12.2018.

ANEMIA OF CHRONIC DISEASES – THE KEY MECHANISMS OF PATHOGENESIS AND THE ATTEMPT OF THE CLASSIFICATION

V.T. Sakhin¹, E.V. Kryukov², O.A. Rukavitsyn²

¹ 1586 Military hospital (4 Mashtakova St. Podolsk 142110 Russian Federation), ² Main Military Clinical Hospital n.a. N. Burdenko (3 Gospitalnaya Sq. Moscow 105229 Russian Federation)

Objective: The study objective is to determine the role of cytokines, hepcidin and soluble transferrin receptor (sTfR) in anemia pathogenesis in patients with malignant neoplasms and to suggest

a working version of the pathogenetic classification of anemia of chronic diseases.

Methods: 63 patients with stage II–IV of a malignant neoplasm were examined. Anemia (1st group) was diagnosed in 41 people, in 22 cases no signs of anemia were found (2nd group). A comparative analysis of the metabolism of iron, C-reactive protein (CRP), hepcidin, sTfR, as well as interleukins (IL) 6 and 10 and tumor necrosis factor α (TNF α) was performed.

Results: Patients with anemia compared with group 2 in the serum of peripheral blood showed lower levels of iron, total iron binding capacity, transferrin saturation coefficient with iron, and higher concentrations of CRP, hepcidin, sTfR, IL6, IL10 and TNF α .

Conclusions: Based on the correlation analysis, a multicomponent genesis of anemia in malignant tumors was demonstrated.

A working version of the classification of anemia of chronic diseases based on the leading pathogenetic factor is proposed: 1) primary iron deficiency, 2) disruption of the regulatory mechanisms of erythropoiesis, 3) insufficient erythropoietin production.

Keywords: cancer, anemia, iron metabolism, cytokines

Pacific Medical Journal, 2019, No. 1, p. 33–37.

© Плаксен Н.В., Устинова Л.В., Степанов С.В., Пономарчук С.Г., Парфенова Е.А., 2019

УДК 616.71–007.234–085.322:582.688.1

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2019.1.37–40

Коррекция экспериментального остеопороза соком и шротом плодов шикши черной

Н.В. Плаксен, Л.В. Устинова, С.В. Степанов, С.Г. Пономарчук, Е.А. Парфенова

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Цель исследования состояла в экспериментальном подтверждении профилактической эффективности сока и шрота из плодов шикши черной (*Empetrum nigrum*) при глюкокортикоидном остеопорозе. **Материал и методы.** У животных моделировали стероидный остеопороз путем внутрижелудочного введения суспензии преднизолона в суточной дозе 5 мг/кг в течение 30 дней. Крысам опытных групп вводили внутрижелудочно сок (1мл/200 г) и шрот шикши (1,4 г/кг) за час до еды. Определяли уровни кальция и фосфора в сыворотке крови на 10-е и 30-е сутки, готовили гистологические срезы бедренной кости крысы и проводили анализ костной ткани. **Результаты исследования.** В результате эксперимента наблюдалась эффективная динамика кальций-фосфорного обмена при введении животным сока шикши через 10 и 30 дней и при введении шрота шикши – через 30 дней эксперимента. Гистологические исследования подтвердили действие сока и шрота на костную ткань. **Обсуждение полученных данных.** Выявлена положительная динамика минерального обмена и регенеративных процессов в костной ткани. К концу эксперимента в контроле наблюдалось подавление процессов остеосинтеза, в то время как костная резорбция усилилась. В опытных группах появились остеобласты и происходило восстановление.

Ключевые слова: крысы, метаболическая остеопатия, системные глюкокортикоиды, кальций-фосфорный обмен

Поиск эффективных средств профилактики остеопороза – актуальная проблема современной медицины. Заболевания костной ткани, связанные с нарушением ее метаболизма, выделяются в группу метаболических остеопатий. Наиболее распространенной формой среди них считается остеопороз [2]. Этиология заболеваний опорно-двигательного аппарата многофакторна и включает в себя патологию внутренних органов, генетические, гормональные причины, нарушения кровоснабжения и обмена веществ, плохое питание, вредные привычки (курение, злоупотребление алкоголем), гиподинамию, длительную терапию системными глюкокортикоидами [7]. Кроме того, согласно экспериментальным и клиническим данным, одним из факторов риска остеоартроза,

остеопороза и других заболеваний опорно-двигательного аппарата, независимо от пола и возраста, служит дефицит или нарушение обмена кальция, бора, кремния и магния [3, 6, 9, 10].

В период обозначенного Министерством здравоохранения перехода к превентивной медицине необходимо расширить предложение лекарственных препаратов на основе растительных средств, которые бы позволили успешнее реализовывать поставленные задачи. В качестве перспективного источника микро- и макроэлементов для исследования нами было выбрано растение шикша черная (*Empetrum nigrum*) семейства Вересковые. Шикша (водяника) – нефармакопейное растение, произрастающее во многих регионах России. На протяжении длительного времени ее плоды использовались в народной медицине

Плаксен Наталья Васильевна – канд. мед. наук, доцент кафедры фармации фармацевтического ф-та ТГМУ; e-mail: natalya.plaksen@mail.ru

для лечения многочисленных заболеваний. Из литературных источников известно, что плоды шикши черной обладают церебропротективным действием. Некоторые исследователи отмечают, что препараты шикши эффективны при гипертонической болезни, быстрой утомляемости, нарушении памяти и сна, при эпилепсии, рассеянном склерозе [1]. Данных о влиянии шикши черной на остеопороз в доступной нам литературе не обнаружено. В связи с этим актуальным представляется изучение химического состава сырья шикши черной и разработка на его основе фитопрепаратов, направленных на профилактику остеопороза. Использование в медицине не только сока, но и шрота плодов обеспечивает замкнутый цикл производства фитопрепаратов и снижает себестоимость продукта.

Цель исследования состояла в экспериментальном подтверждении профилактической эффективности сока и шрота из плодов шикши черной при глюкокортикоидном остеопорозе.

Материал и методы

Использовали свежие плоды шикши черной, заготовленные в период технической зрелости. Из отсортированных плодов непосредственно перед экспериментом отжимали сок на ручном винтовом прессе с дифференциальной головкой. Полученный влажный шрот применяли для дальнейшего исследования. Содержание кальция в соке и шроте шикши определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре Varian (Spectr AA, модель 50B). Обработка и оформление результатов измерений проходили согласно ГОСТ 33462–2015 [4].

Эксперимент выполнен на 76 крысах-самцах линии Вистар массой 200–230 г. Животных содержали в стандартных условиях согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах (Страсбург, 1986) на базе вивария ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае». Крысы были разделены на четыре группы:

1-я группа – интактные животные (10 особей).

2-я группа – контроль: модель стероидного остеопороза (22 особи).

3-я группа – опыт: модель стероидного остеопороза на фоне введения сока из плодов шикши (22 особи).

4-я группа – опыт: модель стероидного остеопороза на фоне применения шрота из плодов шикши (22 особи).

У животных 2–4-й групп моделировали стероидный остеопороз по методике Л.Е. Зиганшиной и др. [5] путем внутрижелудочного введения суспензии преднизолона («Гедеон Рихтер», Румыния). Суточная доза препарата (5 мг/кг) была снижена с целью увеличения выживаемости животных и повышения воспроизводимости исследуемых характеристик, и увеличения длительности эксперимента, что приблизило моделируемую ситуацию к клиническим условиям [6]. Крысам 3-й группы дополнительно вводили сок шикши через

зонд в дозе 1 мл/200 г, крысам 4-й группы – влажный шрот в дозе 1,4 г/кг за час до кормления индивидуально. Суспензию преднизолона, сок и шрот вводили животным ежедневно до момента выведения их из опыта для морфологических исследований на 10-й, 20-й и 30-й дни по 5 особей из 2-й, 3-й и 4-й групп.

На 10-е и 30-е сутки анализировали концентрацию кальция и фосфора в сыворотке крови из хвостовой вены. Уровни кальция и фосфора определяли на биохимическом анализаторе Chemistry Analyzer BS-299 (MINDRAY) фотометрическим методом. Гистологические исследования проведены на кафедре патологической анатомии, судебной медицины и права ТГМУ. Исследуемый материал (бедренные кости крыс), фиксировали в 10% нейтральном формалине, декальцинацию проводили в растворе Decalcifer в течение 10 дней, проводку – в аппарате Gemini AS. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с вычислением средней арифметической (M), ее ошибки (m) и достоверности различий (p).

Результаты исследования

В соке шикши определено содержание кальция $81,0 \pm 7,9$ мг/кг, в шроте – $121,6 \pm 10,4$ мг/кг. Массовая концентрация кальция не выходит за пределы границы диапазона измерений [4].

С учетом того, что минеральная часть кости в основном состоит из гидроксипатита $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, у животных с глюкокортикоид-индуцированным остеопорозом возникали нарушения кальций-фосфорного обмена. На фоне введения суспензии преднизолона в сыворотке крови животных 2-й группы происходило достоверное снижение концентрации кальция и повышение содержания фосфора на 10-й и 30-й дни эксперимента по сравнению с 1-й группой. В 3-й группе, получавшей сок шикши, содержание кальция и фосфора в крови в течение всего эксперимента не изменялась по сравнению с результатами исследования крови интактных животных. В 4-й опытной группе через 10 дней содержание кальция и фосфора достоверно не отличалось от результатов исследования крови контрольной группы, и только на 30-й день эксперимента наблюдали повышение содержания кальция и снижение уровня фосфора. При сравнении 3-й и 4-й: достоверное понижение уровня кальция при повышенном уровне фосфора на 10-й день эксперимента в группе животных, получавших шрот, нивелировалось через 30 дней (табл.).

При гистологическом исследовании у животных 2-й контрольной группы через 10 дней приема преднизолона зарегистрированы признаки начинающего остеопороза: зрелая пластинчатая кость с незначительным истончением костных трабекул, фокусы периостиицитарной резорбции с цепочками остеокластов, остециты расположены относительно равномерно.

Таблица

Содержание кальция и фосфора в сыворотке крови животных с экспериментальным глюкокортикоидным остеопорозом на фоне приема сока и шрота шикши ($M \pm m$)

Группа	Кальций, ммоль/л		Фосфор, ммоль/л	
	через 10 дней	через 30 дней	через 10 дней	через 30 дней
1-я	2,40±0,02	2,42±0,03	1,43±0,03	1,39±0,02
2-я	2,31±0,02 ¹	2,27±0,03 ¹	2,17±0,03 ¹	2,10±0,03 ¹
3-я	2,49±0,06 ²	2,50±0,04 ²	1,51±0,05 ²	1,44±0,05 ²
4-я	2,29±0,03 ^{1,3}	2,43±0,02 ²	1,91±0,06 ^{1,3}	1,36±0,01 ²

¹ Разница с 1-й группой статистически значима.

² Разница со 2-й группой статистически значима.

³ Разница с 3-й группой статистически значима.

Также имелись гаушиповые лакуны (образовавшиеся вследствие разрушения костной ткани). Со стороны эндоста располагались цепочки остеобластов. Через 20 дней наблюдали нарастающие признаки остеопороза: зрелая пластинчатая кость с умеренно выраженной периостиоцитарной и пазушной резорбцией, истончением костных трабекул, увеличение числа гаушиповых лакун, истончение костных балок, единичные остеобласты. Через 30 дней визуализировались зрелая пластинчатая кость с выраженной периостиоцитарной и пазушной резорбцией, истончением костных трабекул, неравномерное расположение остеоцитов, большое количество гаушиповых лакун – пустых и с остеокластами, также увеличение пространства между пластинами, встречались единичные остеобласты (рис., а).

В 3-й группе крыс с экспериментальным остеопорозом, получавшей сок, также наблюдали изменения в материале зрелой пластинчатой кости, но кортикальный и трабекулярный отделы оставались относительно сохранными. В толще костных структур определялись длинные «базофильные», слегка волнистые линии склеивания. Гаверсова система кортикального отдела демонстрировала упорядоченный набор остеонов. На поверхности периоста кортикального отдела встречались единичные гаушиповы лакуны резорбции, некоторые с остеокластами. Со стороны эндооста регистрировались цепочки остеобластов (рис., б).

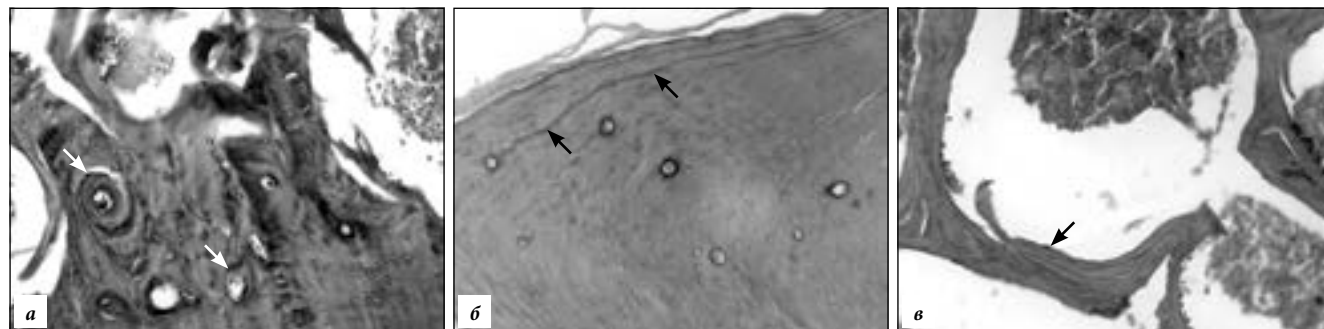


Рис. Гистологическая характеристика костной ткани крыс на 30-й день эксперимента:

а – 2-я (контрольная) группа, пластинчатая кость с гаушиповыми лакунами (стрелки – остеокласт в лакуне гаушипа); б – 3-я группа, трубчатая кость, со стороны эндоста располагаются цепочки остеобластов, просматривается линия склеивания (стрелки); в – 4-я группа, трубчатая кость с пазушной резорбцией и наличием остеобластов (стрелка). Окр. гематоксилином и эозином, $\times 100$.

При получении животными шрота (4-я группа) в материале зрелой пластинчатой кости отмечены кортикальные и трабекулярные отделы с относительно ровными краями медулярной поверхности и с фокусами гладкой резорбции. Гаверсова система кортикального отдела была с относительно упорядоченным набором остеонов. На поверхности периоста кортикального отдела, представленного рыхлой соединительной тканью с единичными сосудами, располагались немногочисленные гаушиповы лакуны резорбции, некоторые с остеокластами. Ткань эндоста была выражена слабо. Со стороны эндоста встречались единичные остеобласты (рис., в).

Обсуждение полученных данных

В настоящее время фармацевтический рынок предлагает достаточно широкий ассортимент лекарственных средств, содержащих соли кальция, но, к сожалению, практически все они имеют противопоказания и могут вызывать серьезные побочные эффекты. Современный подход к коррекции нарушений минерального обмена направлен на замедление и прекращение потери костной массы.

Положительная динамика кальций-фосфорного обмена на фоне приема сока и шрота шикши черной позволяет рассматривать их в качестве профилактических средств при остеопорозе. Лекарственные растения служат естественными источниками минеральных комплексов, и скомпонованные природой в наборе элементы находятся в органически связанной, то есть наиболее усвояемой и доступной форме [8, 9]. Лечебное действие фитопрепаратов зависит от баланса макро- и микроэлементов в лекарственных растениях. Особый интерес в данном аспекте представляет кальций, содержание которого в организме человека колеблется в пределах 1–2 кг. Развитию остеопороза способствует снижение уровня кальция, что приводит к уменьшению образования гидроксиапатита в костной ткани [10].

В результате эксперимента положительная динамика кальций-фосфорного обмена при стероидном

остеопорозе наблюдалась при введении животным сока шикши через 10 и 30 дней исследования и при введении шрота шикши – через 30 дней. При морфологическом исследовании материала контрольной группы регистрировалось нарастание показателей, отражавших процессы резорбции: истончение костных трабекул, увеличение числа остеокластов и уменьшение числа остеобластов. Исследование наличия процессов репаративной регенерации кости на фоне глюкокортикоидного остеопороза показало, что к 20-му и 30-му дням эксперимента наблюдалось подавление процессов остеосинтеза, костная резорбция усилилась, и уменьшилась толщина кортикальных пластинок.

В гистологических образцах от крыс 3-й опытной группы цепочки остеобластов, длинные и слегка волнистые линии склеивания в толще структур свидетельствовали о регенерации костной ткани. В образцах 4-й опытной группы регистрировались немногочисленные остеокласты, характеризующие незначительную интенсивность восстановления костной ткани. Исходя из положительной динамики минерального обмена и регенеративных процессов, выявленных на гистологических срезах костей в опытных группах, исследованные объекты (сок и шрот) могут быть предложены для дальнейшего экспериментального и клинического изучения.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература / References

1. Барнаулов О.Д. Фармакологические свойства растений-церебропротекторов, перспективных для лечения больных рассеянным склерозом. Семейство Шикшевых (*Empetraceae*) // Нейроиммунология. 2008. Т. 6, № 1–2. С. 33–42.
Barnaulov O.D. Farmakologicheskie svoystva rasteniy-tserebroprotectorov, perspektivnykh dlya lecheniya bolnykh rasseyannym sklerozom. Semeystvo shikshevykh (*Empetraceae*) // Neyroimmunologiya. 2008. Vol. 6, No. 1–2. P. 33–42.
2. Бирюкова Е.В. Остеопороз: точка зрения эндокринолога // Фарматека. 2012. № 2. С. 32–39.
Biryukova E.V. Osteoporosis: Point of view of endocrinologist // Pharmateca. 2012. No. 2. P. 32–39.
3. Волков Е.Е., Извольская М.С., Воронова С.Н. [и др.]. Новая фитотерапевтическая композиция для восстановления костной и хрящевой ткани // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015. Т. 59, № 4. С. 30–34.
Volkov E.E., Izvolskaya M.S., Voronova S.N. [et al.]. New phytotherapeutic composition for restoring bone and cartilage. Experimental study // Patologicheskaya fiziologiya i yeksperimentalnaya terapiya. 2015. Vol. 59, No. 4. P. 30–34.
4. ГОСТ 33462–2015. Продукция соковая. Определение натрия, калия, кальция и магния методом атомно-абсорбционной спектроскопии. 2015. 16 с.
GOST 33462–2015. Produktsiya sokovaya. Opredelenie natriya, kaliya, kaltsiya i magniya metodom atomno-absorbtsionnoy spektrometrii. 2015. 16 p.
5. Зиганшина Л.Е., Бурнашева З.А., Ванеева И.Х. [и др.]. Сравнительное изучение эффективности димефосфона и ксидифона при стероидном остеопорозе у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2000. Т. 63, № 6. С. 39–42.
Ziganshina L.E., Burnasheva Z.A., Vaneeva I.Kh. [et al.]. Sravnitelnoe izuchenie yeffektivnosti dimefosfona i ksifidifona

- pri steroidnom osteoporozе u kryс // Experimental and Clinical Pharmacology. 2000. Vol. 63, No. 6. P. 39–42.
6. Колодняк О.Л. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза адаптогенами и их комбинаций с иприфлавоном (экспериментальное исследование): автореф. дис... канд. мед. наук. Владивосток, 2002. 24 с.
Kolodnyak O.L. Farmakologicheskaya korrektsiya yeksperimentalnogo osteoporozа adaptogenami i ikh kombinatsiy s ipriflavonom (yeksperimentalnoe issledovanie): Autoref. dis... kand. med. nauk. Vladivostok, 2002. 24 p.
 7. Лесняк О.М., Баранова И.А., Торопцова Н.В. Клинические рекомендации: диагностика, профилактика и лечение глюкокортикоидного остеопороза у мужчин и женщин 18 лет и старше. Ярославль: Литера, 2013. 48 с.
Lesnyak O.M., Baranova I.A., Toroptsova N.V. Klinicheskie rekomendatsii: Diagnostika, profilaktika i lechenie glukokortikoidnogo osteoporozа u muzhchin i zhenshin 18 let i starshe. Yaroslavl: Litera, 2013. 48 p.
 8. Плаксен Н.В., Устинова Л.В., Степанов С.В. [и др.]. Гепатопротекторный эффект композиции энтеросорбента и природного антиоксиданта // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 73–75.
Plaksen N.V., Ustinova L.V., Stepanov S.V. [et al.]. Hepatoprotective effect of the composition of natural antioxidant and enterosorbent // Pacific Medical Journal. 2015. No. 2. P. 73–75.
 9. Федько И.В. Лекарственные растения – возможные источники основных макро- и микроэлементов // Концепт. 2013. Т. 3. С. 526–530.
Fedko I.V. Medicinal plants – possible sources of basic macro- and micronutrients // Konsept. 2013. Vol. 3. P. 526–530.
 10. Харкевич Д.А. Фармакология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. С. 520–524.
Kharkevich D.A. Farmakologiya. Moscow: GEOTAR-Media, 2015. P. 520–524.

Поступила в редакцию 08.11.2018.

CORRECTION OF EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS WITH JUICE AND OIL MEAL OF *EMPETRUM NIGRUM* FRUITS

N.V. Plaksen, L.V. Ustinova, S.V. Stepanov, S.G. Ponomarchuk, E.A. Parfenova

Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690002 Russian Federation)

Objective: The study objective was to confirm experimentally a preventive effectiveness of juice and oil meal of *Empetrum nigrum* fruits in glucocorticoid-induced osteoporosis.

Methods: Steroid osteoporosis was simulated in animals by intragastric administration of prednisolone suspension in a daily dose of 5 mg/kg for 30 days. Experimental rats were injected intragastrically with juice (1 ml/200 g) and oil meal of *Empetrum nigrum* (1.4 g/kg) up to an hour before meals. The levels of calcium and phosphorus in the blood serum were determined on the 10th and 30th days, histological sections of the rat femur were prepared and bone tissue analysis was performed.

Results: As a result of the experiment, effective dynamics of calcium-phosphorus metabolism was observed with the administration of *Empetrum nigrum* juice to animals after 10 and 30 days and with the administration of *Empetrum nigrum* oil meal – after 30 days of experiment. Histological studies confirmed the effect of juice and oil meal on bone tissue.

Conclusions: The positive dynamics of mineral metabolism and regenerative processes in bone tissue was revealed. By the end of the experiment, control was observed to suppress the processes of osteosynthesis, while bone resorption increased. Osteoblasts appeared in the experimental groups and recovery took place.

Keywords: rats, metabolic osteopathy, system glucocorticoids, calcium phosphoric metabolism

Pacific Medical Journal, 2019, No. 1, p. 37–40.