

## ИЗМЕНЕНИЯ БАЛАНСА ЦИНКА, МАГНИЯ И КАЛЬЦИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С АЦЕТАТНОЙ МОДЕЛЬЮ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗА

Привалова И.Л., Камал Э.Т., Озерова И.Ю.

*ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: ir\_priv@mail.ru*

В эксперименте была изучена динамика содержания микро- и макроэлементов (цинка, магния, кальция) в сыворотке крови лабораторных крыс при моделировании ацетатной язвы желудка. Концентрация ионов цинка в сыворотке крови повышалась на 38,5 % ( $p < 0,05$ ) к третьим суткам после аппликации ледяной уксусной кислоты на серозную оболочку пилорического отдела желудка крысы. С четвертых суток наблюдалось снижение содержания ионов цинка, которое составило 75,7 % ( $p < 0,05$ ) на седьмые сутки эксперимента. Концентрация магния в сыворотке крови крыс в условиях ацетатной модели язвообразования уменьшалась с четвертых суток эксперимента (на 25 %,  $p < 0,05$ ) по седьмые сутки (на 38,2 %,  $p < 0,05$ ). Содержание кальция возрастало на 24,7 % на третьи сутки, а к четвертым снижалось на 29,1 % ( $p < 0,05$ ), а к шестым суткам восстанавливалось до значений контрольной группы. Динамика изменения содержания электролитов (цинка, магния, кальция) в сыворотке крови крыс коррелировала с изменениями значения «язвенного индекса» Паулса.

Ключевые слова: экспериментальное язвообразование, ацетатная модель, цинк, магний, кальций.

## CHANGES IN SERUM ZINC, MAGNESIUM AND CALCIUM BALANCE IN RATS WITH ACETATE MODEL OF ULCEROGENESIS

Privalova I.L., Kamal E.T., Ozerova I.Yu.

*Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: ir\_priv@mail.ru*

The experiment studied the fluctuations of blood serum micro- and macroelements (zinc, magnesium and calcium) content in laboratory rats during acetate ulcer modeling. Serum concentration of zinc ions increased by 38.5 % ( $p < 0.05$ ) by the third day after glacial acetic acid application on pyloric serosa of the rat's stomach. From the fourth day there was a reduction of zinc ions content which amounted to 75.7 % ( $p < 0.05$ ) on the seventh day of the experiment. The concentration of blood serum magnesium in rats in the context of acetate model of ulceration decreased from the fourth day of the experiment (by 25 %,  $p < 0.05$ ) through the seventh day (by 38.2 %,  $p < 0.05$ ). The calcium content increased by 24.7 % on the third day, and by the fourth it decreased by 29.1 % ( $p < 0.05$ ), and by the sixth day it was restored to the values of the control group. Changes in blood serum electrolyte (zinc, magnesium and calcium) content in rats correlated to changes in Pauls Ulcer Index values.

Keywords: experimental ulceration, acetate model, zinc, magnesium, calcium.

Гомеостаз микро- и макроэлементов тесно связан с функционированием желудочно-кишечного тракта. Цинк стимулирует транскрипцию генов и пролиферацию клеток, а также отвечает за активацию ДНК и РНК-полимеразы [1]. Этот микроэлемент входит в состав ряда ферментов: щелочной фосфатазы, карбоксипептидаз, ряда дегидрогеназ, аминопептидаз, ангидраз, супероксиддисмутаза и др. [2]. Имеются предположения об участии цинка в поддержании целостности слизистой оболочки желудка [14]. В экспериментах установлено стимулирующее влияние цинка на продукцию слизи в желудке, что может являться одним из механизмов гастропротекции [6]. В экспериментах на животных показано, что цинкдефицитная диета способствует развитию язвенных поражений слизистых оболочек желудка и кишечника и увеличивает степень выраженности экспериментальных повреждений желудка [11]. В ходе экспериментальных исследований также было выявлено,

что гипертрофические, эрозивные (по данным эндоскопии) и диффузные (по данным морфологического исследования) изменения в слизистой двенадцатиперстной кишки и антрального отдела желудка коррелировали с более низкими показателями цинка в сыворотке крови. Введение терапевтических доз цинка в состав комплексного лечения способствовало положительной лабораторной динамике [1]. Результаты доклинических и клинических исследований свидетельствуют о том, что цинк-содержащие соединения могут быть успешно использованы для профилактики и для лечения язвенной болезни желудка [11, 6]. Цинк способствует стабилизации лизосомальных мембран, обуславливая терапевтический эффект при эрозивных гастропатиях [8].

Дефицит магния приводит к замедлению синтеза белковых молекул и нуклеиновых кислот, так как является активатором таких ферментов как: ДНК-полимераза, РНК-полимераза, полинуклеотидаза. В ходе экспериментальных исследований доказано, что недостаток магния негативно влияет на заживление эрозивных дефектов [5]. В настоящее время известно о нарушениях статуса магния в качестве основного патофизиологического события при развитии язвы желудка [13]. Показано, что введение магния крысам обладает мощным антиульцерогенным действием, вероятно, за счет ингибирования роста уровней синтазы оксида азота мРНК и оксида азота в слизистой оболочке желудка [12]. Под влиянием магнийсодержащей композиции происходит разной степени выраженности снижение содержания малондиальдегида в тканях желудка и плазме крови, который, в свою очередь, появляется в крови при деградации полиненасыщенных жирных кислот в процессе язвообразования [7]. Магний является важным фактором для образования соляной кислоты, регулирует секрецию желудка вместе с кальцием [10]. Дисбаланс в магниевый кальциевой системе может привести к нарушению работы желудочно-кишечного тракта. В частности, у крыс площадь язвы коррелирует с механизмами перераспределения кальция, возможна мобилизация его из депо в активную фазу язвенного повреждения, и снижения в фазы рубцевания и эпителизации [4].

Нарушения функционирования желудочно-кишечного тракта приводит к изменению содержания микро и макроэлементов в плазме крови, что может помочь в ранней диагностике таких заболеваний, как язва желудка и двенадцатиперстной кишки, что и определяет важность данного вопроса.

**Цель работы** – определить изменения баланса цинка, магния и кальция в сыворотке крови крыс с ацетатной моделью ульцерогенеза.

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

Исследования проведены в пяти сериях опытов на лабораторных беспородных крысах массой 250–300 г, содержащихся в стандартных условиях вивария медико-биологической

клиники КГМУ. Работа выполнена с соблюдением этических норм использования животных в медико-биологической практике, руководствуясь приказом № 755 от 12.08.77 МЗ СССР «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», приказом Министерства высшего образования СССР № 724 (1984) «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» и положениями Директивы 2010/63 EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях.

Опытным животным воспроизводили ацетатную модель язвенного повреждения желудка, которая используется в современных исследованиях для изучения развития и заживления хронических язв [15]. Для этого крыс после суточного голодания наркотизировали с помощью хлоралгидрата (300 мг/кг). Затем производили срединную лапаротомию и обнажали желудок. К его серозной поверхности в течение 15 секунд плотно прижимали кружок фильтровальной бумаги диаметром 7—8 мм, смоченный в ледяной уксусной кислоте. Для стандартизации условий язвообразования бумагу накладывали примерно на одно и то же место желудка крысы (в области пилорического отдела). Внутренние швы обрабатывали порошком пенициллина или стрептоцида; шов на коже обрабатывали йодом. Прооперированных животных помещали в клетку с чистыми опилками. Обеспечивали свободный доступ к пище и воде. В первые два дня после операции производился ежедневный осмотр наружного шва — его целостности и чистоты.

Для изучения динамики развития язвообразования животных выводили из эксперимента на 3-и сутки (группа № 2), 4-е (группа № 3), 6-е (группа № 4) и 7-е сутки (группа № 5). Контролем служили ложнооперированные животные (группа № 1), которым производили лапаротомию без моделирования язвенного повреждения

Забор крови производили методом пункции сердца. У крыс средних размеров получали 3–5 мл крови, которую аккуратно помещали в вакуумные пробирки UNIVAC® с активатором свертывания крови и центрифугировали на скорости 3000 оборотов в течение 10 минут. В полученной сыворотке определяли содержание цинка, магния и кальция с помощью автоматического анализатора Random Access A-25.

Для оценки состояния слизистой оболочки желудка делали разрез по малой кривизне, подсчитывали количество деструкций у каждого животного, процентное соотношение пораженных животных, и на основании полученных данных рассчитывали значения «язвенного индекса» Паулса [9].

Полученные данные проверяли на нормальность распределения с использованием тестов Шапиро – Уилка. В зависимости от формы распределения для оценки статистической

значимости различий между выборками применяли критерии Стьюдента или Крускала – Уоллиса.

### Результаты исследования и их обсуждения

На третьи сутки у экспериментальных животных наблюдалось повышение концентрации ионов цинка в сыворотке крови на 35,5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению со значениями контрольной группы. Затем содержание цинка снижалось относительно контроля на 16,3 % (четвертые сутки эксперимента), к шестым суткам это снижение становилось значимым и составило 62,7 % ( $p < 0,05$ ), а к седьмым – 75,7 % ( $p < 0,05$ ) (табл.1).

Таблица 1

#### Динамика содержания электролитов в сыворотке крови крыс при моделировании ацетатной язвы, $\pm m, Me [P1;P2]$

| Показатель                                       | Группа №1<br>(контроль) | Группа №2<br>(3 сутки)           | Группа №3<br>(4 сутки) | Группа №4<br>(6 сутки) | Группа №5<br>(7 сутки) |
|--|-------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Zn в сыворотке крови лабораторных крыс (ммоль/л) | 68±0,24                 | 92,2*<br>[97,5<br>56,7<br>143,9] | 56,9±7,6               | 25,3±1,9*              | 16,5±1,1*              |
| Mg в сыворотке крови лабораторных крыс (ммоль/л) | 1,65 ±0,09              | 1,59 ± 0,02                      | 1,32 ±0,06*            | 1,02 ±0,03*            | 1,05 ±0,02*            |
| Ca в сыворотке крови лабораторных крыс (ммоль/л) | 3,19±0,22               | 3, 98 ±0,08                      | 2, 26±0,05*            | 3,02±0,22              | 2,72±0,25              |

Примечание: \*Статистически значимые отличия от значений контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Концентрация ионов магния также уменьшалась с четвертых (на 25 %,  $p < 0,05$ ) по седьмые сутки эксперимента (на 38,2% ( $p < 0,05$ )) в сравнении со значениями контрольной группы. Содержание кальция возрастало на 24,7 % на третьи сутки, к четвертым снижалось на 29,1 % ( $p < 0,05$ ), а к шестым суткам восстанавливалось до значений контрольной группы.

Колебания концентрации электролитов в сыворотке крови экспериментальных животных с моделью язвенного повреждения желудка могут быть интерпретированы в сопоставлении со значениями «язвенного индекса» Паулса. Наибольшим его значение было на третьи сутки эксперимента, что соответствует максимальной степени повреждения

слизистой желудка. Уменьшение индекса Паулса до 1,3 к седьмым суткам эксперимента (табл. 2) подтверждает высокую активность регенеративных процессов.

Таблица 2

**Изменения «язвенного индекса» при моделировании ацетатной язвы**

| Группа               | Среднее число деструкций на 1 животное (M+m) | Процентное поражение животных | Индекс Паулса |
|----------------------|--|-------------------------------|---------------|
| Группа №1 (контроль) | -  | -                             | -             |
| Группа №2 (3 сутки)  | 13±1,6                                       | 100                           | 13            |
| Группа №3 (4 сутки)  | 4,7±0,5                                      | 90                            | 4,23          |
| Группа №4 (6 сутки)  | 3,4±0,3                                      | 65                            | 1,9           |
| Группа №5 (7 сутки)  | 2±0,2  | 56,2                          | 1,3           |

Полученные результаты свидетельствуют о повышении концентрации цинка и кальция в сыворотке крови в острую фазу развития язвенного повреждения (третьи сутки эксперимента). В фазу рубцевания и эпителизации (шестые и седьмые сутки эксперимента) их содержание существенно снижалось. Концентрация магния также уменьшалась, но снижение происходило постепенно, начиная с четвертых суток эксперимента.

Изменения острой фазы можно объяснить разрушением клеточных белков, в частности, цинкзависимых ферментов, вследствие чего и повышается уровень цинка в крови [6]. Спад интенсивности повышения концентрации ионов цинка в плазме крови является одним из показателей активации репаративных процессов, в которых цинк используется для образования новых ферментов пролиферации и дифференцировки. Механизм снижения концентрации ионов цинка в сыворотке крови может быть также связан с потенцированием энергетического обмена в клетках желудочно-кишечного тракта, учитывая известные данные об увеличении содержания АТФ в клетках слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта под влиянием цинка [8]. Снижение концентрации ионов магния также совпадает со временем заживления язвенных дефектов слизистой желудка, что может быть обусловлено накоплением магния активно делящимися клетками, участвующими в репарации поврежденных тканей желудка [6]. Колебания концентрации кальция в сыворотке крови экспериментальных животных на различных этапах язвообразования может быть обусловлено взаимоотношениями метаболизма кальция и секреции соляной кислоты [3]. Относительные изменения концентрации исследуемых ионов в сыворотке крови представлены на рисунке 1.

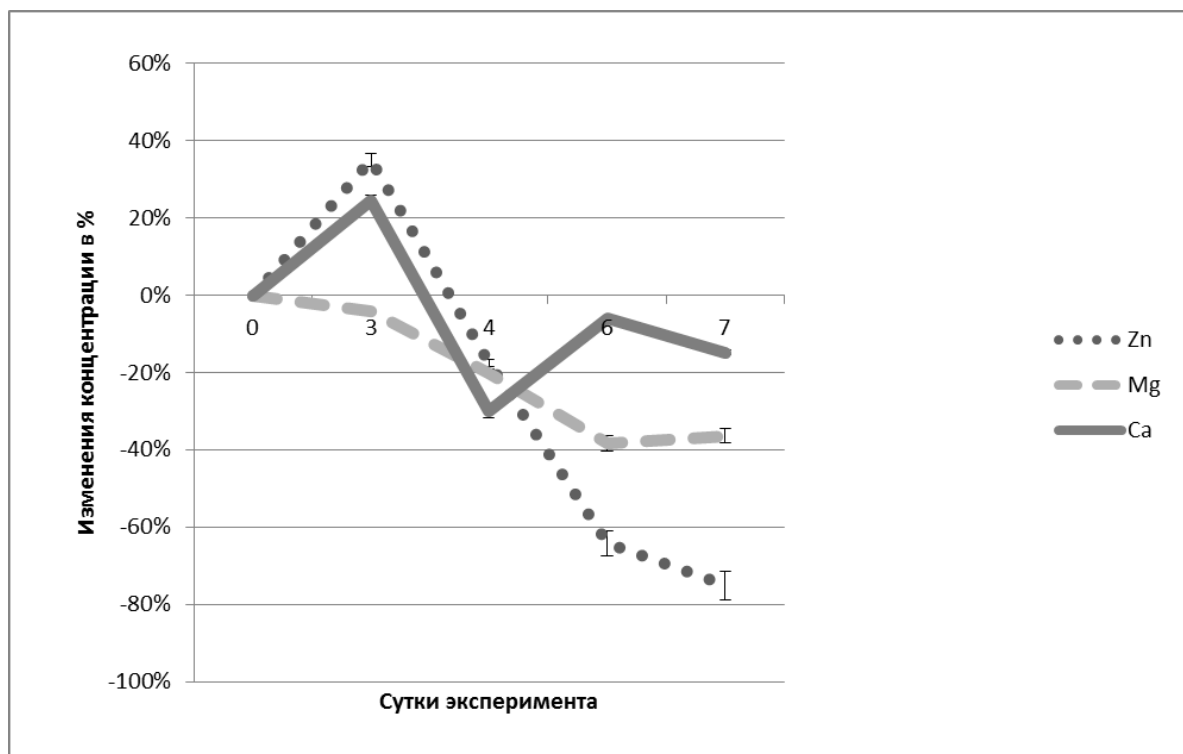
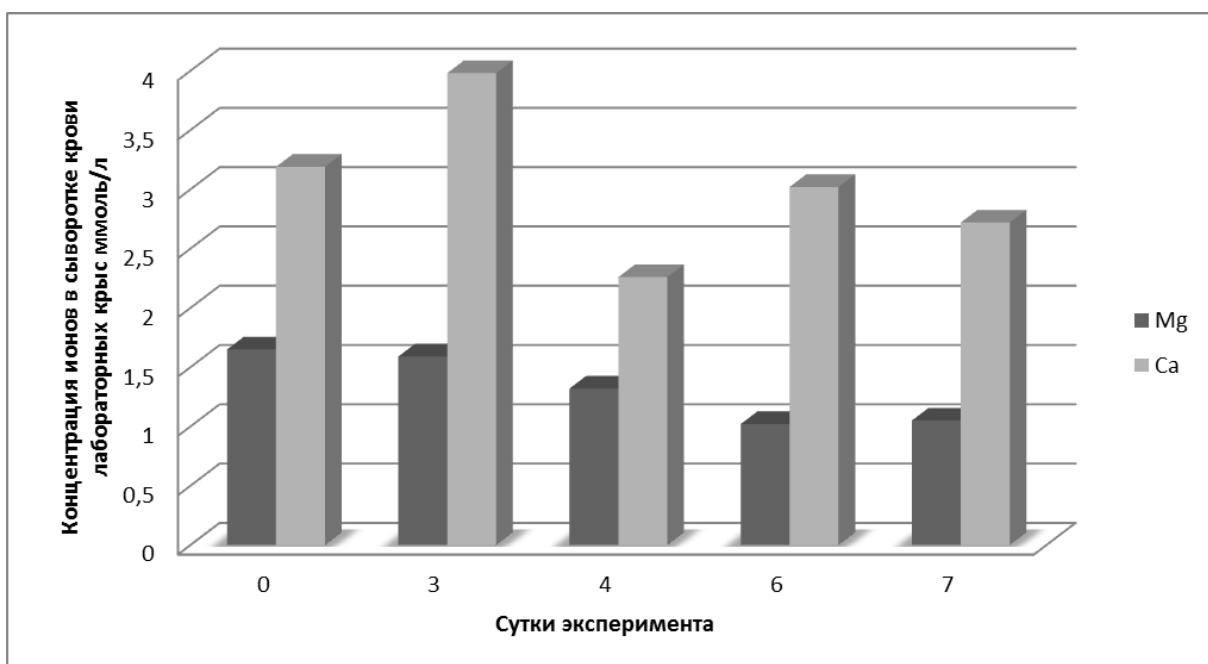


Рис. 1. Относительные изменения концентрации цинка, магния и кальция в сыворотке крови крыс с ацетатной моделью язвенного повреждения желудка

Рассматривая полученные данные с точки зрения системной регуляции и ее нарушений, важно обратить внимание на изменение кальций-магниевых соотношений. Известно, что магний действует как физиологический антагонист кальция, конкурируя с ним за потенциалзависимые и рецепторуправляемые каналы [4]. В нашем исследовании концентрации кальция в сыворотке крови контрольных крыс в 1,9 раза превышала концентрацию магния (рис. 2).



*Рис. 2. Кальциево-магниевые соотношения в сыворотке крови крыс с ацетатной моделью язвенного повреждения желудка*

Это соотношение нарушалось в процессе формирования и последующего заживления язвенного дефекта слизистой оболочки желудка. Концентрация ионов кальция по сравнению с концентрацией ионов магния в сыворотке крови на третьи сутки эксперимента была выше в 2,5 раза, на шестые – в 2,96 раза, а на седьмые – в 2,59 раза. В то же время на четвертые сутки эксперимента кальций-магниевое соотношение составило 1,71, что свидетельствует о снижении относительной концентрации кальция во время перехода к активной репарации поврежденной слизистой желудка.

### **Выводы**

1. В условиях экспериментального моделирования язвенного повреждения желудка наблюдаются фазовые колебания концентрации ионов цинка и кальция в сыворотке крови крыс.
2. Динамика изменения содержания электролитов (цинка, магния, кальция) в сыворотке крови крыс коррелирует с изменениями значения «язвенного индекса» Паулса.
3. Максимальная степень повреждения слизистой желудка сопровождается повышением содержания цинка (на 35,5%,  $p < 0,05$ ) и кальция (на 29,1 %  $p < 0,05$ ). В фазу рубцевания и эпителизации наблюдается снижение концентрации ионов цинка (на 75,7%,  $p < 0,05$ ) и магния (на 38,2 %,  $p < 0,05$ ) в сыворотке крови экспериментальных животных.

### **Список литературы**

1. Лаврова А.Е. Дефицит цинка в патогенезе хронического гастродуоденита у детей дошкольного возраста; обоснование методов коррекции / А.Е. Лаврова, Л.А. Щеплягина // Рос. педиатр. журн. – 2004. – № 4. – С. 44-46.
2. Лифшиц И.В. Значение клинико-эндоскопических, биохимических, морфологических критериев и микроэлемента цинка в прогнозировании течения язвенной болезни: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Саратов, 2005. – 26 с.
3. Масловский Л.В. Труднорубцующиеся гастродуоденальные язвы / Л.В. Масловский, О.Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2011. – № 7. – С. 25-28.
4. Мельченко Е.А. Организация циркадианного ритма уровня внутриклеточного магния общего кальция у крыс с экспериментальной гипокальциемией / Е.А. Мельченко, В.А. Батурин // Фундаментальные исследования в биологии и медицине: Сборник научных трудов. – Ставрополь, 2006. – № 1. – С. 156-158.

5. Поветкина В.Н. Уровень магния в биологических жидкостях на фоне применения магнийсодержащей композиции у стресснеустойчивых крыс с экспериментальной язвой желудка / В.Н. Поветкина, Л.Н. Рогова // Человек и лекарство: мат. XVIII Российского национального конгресса. – 2011. – № 1. – С. 470-471.
6. Подобед В.М. Цинк Карнозин: новая формула гастропротекции и восполнения дефицита цинка / В.М. Подобед // Медицинские новости. – 2015. – № 2. – С. 17–20.
7. Рогова Л.Н. Влияние магнийсодержащей композиции на интенсивность пероксидации, магниевый баланс и показатели воспалительной клеточной инфильтрации у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия / Л.Н. Рогова, К.Ю. Тихаева, Н.В. Григорьева [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 2 (54). – С. 127–130.
8. Тарасова Л.В. Роль алиментарного дефицита селена, цинка и марганца в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 38 с.
9. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – Москва: Медицина, 2005. – 832 с.
10. Bononi A. Comparison of Magnesium concentration in serum, erythrocytes and gastric tissue in two groups of patients affected by chronic gastritis, Helicobacter pylori negative and positive / A. Bononi, V. Abbasciano, G. Vecchiatti, M. Ranzini // Magnesium research: official organ of the International Society for the Development of Research on Magnesium. – 2003. – Vol. 12, №11. – P. 30-34.
11. Lansdown A.B. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects / A.B. Lansdown, R.F. Path, U. Mirastschijski // Wound Rep Reg. – 2007. – Vol. 15, № 1. – P. 2-16.
12. Noriaki Nagai. Co-administration of Water Containing Magnesium Ion Prevents Loxoprofen-Induced Lesions in Gastric Mucosa of Adjuvant-Induced Arthritis Rat / Noriaki Nagai, Atsushi Takeda, Yuri Itanami // Biol. Pharm. Bull. – 2012. – Vol. 35, № 12. – P. 2230–2237.
13. Mooren F.C. Magnesium status and gastric function: experimental and clinical data // Magnes Res. – 1999. – Vol. 18, № 12. – P. 311-8.
14. Opoka W. Importance of luminal and mucosal zinc in the mechanism of experimental gastric ulcer healing / W. Opoka, D. Adamek, M. Plonka // Journal of physiology and pharmacology. – 2010. – Vol. 6, № 1. – P. 581–589.
15. Okabe S., Pfeiffer C.J., Roth I.L. A method for experimental penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. Digestion. – 1987. – Vol. 1, № 38. – 103-113.