

Спасов А.А., Бугаева Л.И., Лебедева С.А.,
Текутова Т.В., Коржова Т.М., Гетманенко А.Ю.

НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
E-mail: lebedeva.farm@mail.ru

ВЛИЯНИЕ АЛИМЕНТАРНОГО ДЕФИЦИТА МАГНИЯ НА ПРОЦЕССЫ ЭМБРИО- И ФЕТОГЕНЕЗА, РЕГИСТРИРУЕМЫЕ В АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ ПЛОДОВ КРЫС

Организм человека имеет систему саморегуляции гомеостаза, в которой большую роль играют нутриенты. Патологические состояния, стрессы, повышенная функциональная активность организма могут быть причиной развития макро- и микрополиэлементозов, что приводит к биохимическим и функциональным изменениям в организме.

Дефицит магния представляет собой актуальную проблему как за рубежом, так и в России. При дефиците магния снижается антиоксидантная защита, нарушается секреция инсулина, изменяется метаболизм белков и обмен жиров, отмечается патология эндокринной системы. Недостаток магния у женщин встречается на 20–30% чаще, чем у мужчин. Женский организм более чувствителен к дефициту магния, что биологически целесообразно в связи с активным участием магния в функции деторождения. При хроническом недостатке магния наблюдаются нарушения менструального цикла, дисменорея, отмечается выраженный предменструальный синдром, остеопороз, чаще возникает патология шейки матки. Все перечисленные нарушения, связанные с дефицитом магния в женском организме, могут патологически изменить течение беременности и родов. В этой связи было проведено доклиническое изучение влияния алиментарного дефицита магния на процессы внутриутробного развития плодов крыс. Содержание крыс на диете без солей магния привело к развитию гипомагниемии в крови. Уровень магния у самок опытной группы снизился в плазме крови на 18,6% ($p < 0,05$) и на 24,8% ($p < 0,05$) в эритроцитах по отношению к контролю. У самок с дефицитом магния доимплантационная и постимплантационная гибель плодов увеличилась в 2,3 раза ($p < 0,05$) и 3,8 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Магнийдефицитное состояние в период беременности статистически значимо повышает до- и постимплантационную гибель плодов, увеличивает число резорбиновых плодов, снижает их массу и краниокаудальные размеры, и количество мест оссификаций в грудине, ястне и плюсне.

Ключевые слова: крысы, гипомагниемия, диета без солей магния, беременность, процессы оссификации.

Важнейшее физиологическое значение магния определяется его ролью в жизнедеятельности организма. Магний является универсальным регулятором биохимических и физиологических процессов. Особое влияние магний оказывает на репродуктивную систему, отвечая за морфофункциональное состояние эндометрия и миометрия обеспечивая адекватное течение беременности и родов [3]. По данным авторов [5], [8] дефицит магния вызывает морфологические изменения в матке, которые характеризуются отеком и дистрофией клеток, а также различной степенью выраженности лимфоцитарной и эозинофильной инфильтрации и очаговой отслойкой клеток [9], [10]. Вероятно, данные изменения могут повлиять на воспроизведение потомства [5], [7]. При этом ко клиническим наблюдениям недостаток магния у женщин в период беременности может спровоцировать спонтанные аборт, проклампсию, гестозы и другие осложнения.

Целью настоящего исследования явилось доклиническое изучение влияния алиментарного дефицита магния на процессы эмбрио- и фетогенеза, регистрируемые в антенатальный период развития плодов крыс.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 40 половозрелых беспородных крысах-самках массой 250–270 г. доставленных из питомника ФГУ «НИИГТ и П» ФМБА (г. Волгоград) и прошедших 2-х недельный карантин в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ. Содержание животных в период исследований соответствовало правилам лабораторной практики Российской Федерации и Международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях [10]. Для проведения исследований, животные первоначально были разделены на 2 равные группы: контрольную и

опытную. Опытная группа крыс самок в течение 2-х месяцев находилась на диете без солей магния [2], [6]. Контрольная группа крыс самок в этот период времени была интактной и находилась на полноценной диете. В этот период у контрольной и опытной групп самок исследовали общее состояние, еженедельно измеряли массу тела. Измерения уровня магния в плазме крови и эритроцитах проводились по окончании 1-го и 2-го месяцев эксперимента. Критерием развития магнидефицитного состояния считали снижение концентрации магния в эритроцитах ниже 1,7 ммоль/л [1].

Крыс самок опытной и контрольной групп спаривали с интактными самцами, используя общепринятые методы [4]. Первым днем беременности считался день обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке. Забеременевших крыс самок контрольной и опытной групп помещали в индивидуальные клетки по одной особи на весь период наблюдений, при этом беременные крысы самки от интактной контрольной группы оставались на полноценном пищевом рационе, а беременные крысы самки опытной группы, продолжали получать безмагниевую диету. В период беременности у крыс самок оценивали общее состояние и прирост массы тела. На 20 день беременности крыс самок подвергали эвтаназии (проводили дислокацию шейных позвонков под легким эфирным наркозом). После эвтаназии у крыс самок вскрывали брюшную полость, выделяли яичники и рога матки. В яичниках подсчитывали количество желтых тел беременности, в рогах матки – количество мест имплантации, резорбций, живых и мертвых плодов. На основании полученных данных рассчитывали до- и постимплантационную гибель плодов. Выделенные плоды крыс, тщательно осматривали (на предмет внешне видимых аномалий развития), затем у них измеряли краниокаудальные размеры (см) и массу тела (г). 1/3 часть плодов фиксировали в растворе Боуэна для последующего исследования внутренних органов, 2/3 плодов фиксировали в спирте для изучения состояния скелета плодов, после проводки и окрашивания ализарином [Смольникова].

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 6.0. с использованием однофакторного дисперсного

анализа и t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Результаты исследований

По результатам исследований установлено, что содержание крыс в течение 2-х месяцев на безмагниевой диете способствовало постепенному снижению уровня магния. Через 1 месяц, уровень магния у крыс самок в опытной группе составил: $0,86 \pm 0,07$ ммоль/л в плазме крови и $1,91 \pm 0,17$ ммоль/л в эритроцитах; в контрольной группе: $1,06 \pm 0,15$ ммоль/л в плазме и $2,28 \pm 0,49$ ммоль/л в эритроцитах. На второй месяц исследований уровень магния в опытной группе статистически значимое снизился в плазме крови на 18,6% ($0,36 \pm 0,07$ ммоль/л) и на 24,8% ($1,58 \pm 0,23$ ммоль/л) в эритроцитах по отношению к интактному контролю. По результатам наблюдений выявлено, что общее состояние у крыс, находившихся на диете, зависело от длительности потребления корма без солей магния. На 1-й месяц общее состояние крыс самок опытной группы практически не отличалось от контрольной группы. К окончанию второго месяца у самок опытной группы наблюдалось потускнение шерстного покрова и гиперемия открытых участков тела, а их вес был снижен на 11,2% ($p < 0,05$) по отношению к контролю.

Отмеченные изменения у крыс самок опытной группы в крови свидетельствовали о развитии экспериментальной гипомagneзиемии средней степени тяжести.

В связи с этим на следующем этапе было проведено спаривание крыс самок опытной и контрольной групп, с интактными самцами. Затем беременных самок на 20 день подвергали эвтаназии. По результатам спаривания крыс не обнаружено различий в количестве забеременевших самок в контрольной и опытной группах.

По результатам измерения массы тела (табл. 1), установлено, что в опытной группе к 20 дню беременности прибавка массы составила 20,9% ($p > 0,05$) по отношению к первому дню беременности, тогда как, в контрольной группе – 29,8% ($p > 0,05$).

По результатам вскрытия беременных самок представленных в таблице 2 крыс не обнаружено, патологических изменений в ре-

Таблица 1 – Влияние диеты без солей магния на динамику массы тела беременных крыс самок с 1-го по 20-й дни беременности (г, M±m)

Исследуемые параметры	Контроль интактный (n=20)	Опыт-1, Диета без солей магния (n=20)
Исходные данные	264,7±8,84	274,1±6,35
6 дней	279,8±9,34 (5,7)	285,1±5,93 (4,0)
12 дней	298,9±10,10 (12,9)	299,2±6,78 (9,2)
18 дней	322,1±10,79 (21,7)	313,3±7,85* (14,3)
20 дней	343,7±12,16 (29,8)	331,3±9,46* (20,9)

Примечание:() – в скобках указан прирост массы тела в% по отношению к исходным данным

Таблица 2 – Влияние диеты без солей магния (с 1-го по 20-й дни беременности) на антенатальное развитие плодов крыс (г, M±m)

Исследуемые параметры	Контроль интактный	Опыт-1, Диета без солей магния
Количество желтых тел	9,8±0,42	10,6±0,73 (8,2)
Количество мест имплантации	8,0±0,37	6,61±1,10 (-17,5)
Доимплантационная гибель%	18,0±3,20	41,2±7,92* (129,1)
Количество плодов	7,8±0,44	6,3±1,18 (-19,3)
Количество резорбции на самку	0,2±0,13	0,3±0,15 (50,0)
Постимплантационная гибель%	3,4±2,33	16,4±10,54* (378,1)
Краникаудальный размер плодов, см	3,8±0,06	3,6±0,37* (-5,2)
Масса плодов, г	3,9±0,06	3,5±0,12** (-11,2)
Индекс зачатий	1,0	1,0

Примечание: 1* p<0,05; 2** p<0,01 достоверно по сравнению с контрольными значениями; () – в скобках указан результат в% по отношению к контрольным показателям.

Таблица 3 – Влияние диеты без солей магния (с 1-го по 20-й дни беременности крыс самок (n = 20) на число точек оссификации эмбрионов (M±m)

Исследуемые места оссификации	Контроль интактный	Опыт-1, Диета без солей магния
Грудина	4,5±0,10	4,3±0,11
Рёбра	12,9±0,05	12,9±0,04
Позвонки	33,3±0,15	33,0±0,18
Лопатка	1,0±0,00	1,0±0,00
Ключица	1,0±0,00	1,0±0,00
Верхняя конечность	3,0±0,00	3,0±0,00
Пястные	3,9±0,05	3,6±0,09
Тазовые	3,0±0,00	3,0±0,00
Нижняя конечность	3,0±0,00	3,0±0,00
Плюсневые	3,9±0,04	3,6±0,09

зультатах зачатия. При этом у крыс в опытной группе по сравнению с контролем была выявлена тенденция повышения количества желтых тел беременности на 8,2% ($p>0,05$), тогда как, количество мест имплантаций недостоверно было снижалось на 17,5% ($p>0,05$). В этой связи по результатам расчета оказалось, что у крыс с дефицитом магния в организме, доимплантационная гибель была статистически значимо выше в 2,3 раза по отношению к контролю.

При осмотре плодов, выделенных из рогов матки обнаружено повышение числа резорбированных плодов на 50% ($p>0,05$), по отношению к контролю, при этом количество плодов снизилось на 19,3% ($p>0,05$). Данные показатели в свою очередь отразились на постимплантационной гибели плодов которая увеличилась в 3,8 раза ($p<0,05$).

При осмотре плодов полученных от крыс самок опытной группы было отмечено снижение относительно контрольных величин массы на 11,2% ($p<0,01$) и краникоудальных размеров на 5,2% ($p<0,05$). При этом у данных плодов, обнаружено наличие мелкоточечных и обширных

подкожных кровоизлияний в области головы и в грудной части тела.

По результатам макроскопического изучения послойных срезов плодов не обнаружено аномалий закладки и развития внутренних органов, а также существенных различий в процессах оссификации (табл. 3) в скелетах плодов опытной группы. У плодов выявлены лишь тенденции к их снижению не выходящие за пределы физиологических норм в области пястны на 7,3% ($p>0,05$), плюсны на 8,6% ($p>0,05$) и грудине на 4,4% ($p>0,05$) по отношению к контрольной группе плодов.

Таким образом, содержание крыс на диете без солей магния приводит к развитию гипомagneзиемии в крови. Магнийдефицитное состояние в период беременности статистически значимо приводит к повышению до- и постимплантационной гибели плодов, увеличивает число резорбиновых плодов, снижает их массу и краникоудальные размеры, снижает количество мест оссификаций в грудине, пястне и плюсне.

07.10.2016

Список литературы:

1. Изменение содержания магния в органах и тканях крыс, находящихся на магнийдефицитной диете / А.А. Желтова и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – №4. – С. 26–30. – ISSN: 1560-9596.
2. Эмбриотропные свойства очищенного минерала бишофит / С.А. Лебедева и др. // Сб: IV съезд токсикологов России, 6–8 ноября 2013 г. – Москва. – С. 280–283.
3. Влияние дефицита магния на поведенческую активность, процессы фертильности и репродуктивные органы крыс-самок / С.А. Лебедева и др. // Микроэлементы в медицине. – 2015. – 16(1). – С. 15–21.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая. – М.: 2012 – 944 с.
5. Влияние комбинации L-аспарагината с витамином В6 на процессы органогенеза, регистрируемые в антенатально и постнатальном периодах развития / А.А. Спасов и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. – Том 79. – №8. – С. 18–22.
6. Изучение поведения, мнестических реакций и болевой магния чувствительности у крыс самок при экспериментальном дефиците / А.А. Спасов и др. // Материалы I научно-практической конференции с международным участием «Деадаптация различного генеза и пути ее фармакологической коррекции» 2–3 ноября 2015 г. – Пятигорск. – Приложение 1. – 2015. – С. 104–105.
7. Влияние дефицита магния на процесс зачатия и антенатального развития плода / А.А. Спасов и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – №6. – С. 35–38.
8. Структурные изменения в системе «гипоталамус-гипофиз-яичники-матка» при моделировании алиментарного дефицита магния / А.А. Спасов и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX. – №2. – С. 230–234.
9. Исследование овуляторной цикличности и половых мотиваций у крыс с экспериментальной гипомagneзиемией (тезисы) / В.А. Толокольников и др. // Вестник волгоградского медицинского университета, приложение (Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии направленный поиск лекарственных средств»). – Волгоград, издательство ВолГМУ. – 2012. – С. 102–103.
10. Анализ индуцированного различными солями магния алиментарного дефицита магния в матке и яичниках / В.А. Толокольников и др. // Материалы I научно-практической конференции с международным участием «Деадаптация различного генеза и пути ее фармакологической коррекции» 2–3 ноября 2015 г., г. Пятигорск. – Приложение 1. – 2015. – С. 114–115.

Сведения об авторах:

Спасов Александр Алексеевич, заведующий кафедрой фармакологии

Волгоградского государственного медицинского университета,

академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук

400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: aspasov@mail.ru

Бугаева Любовь Ивановна, заведующий лабораторией лекарственной безопасности,
НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета,
доктор биологических наук, профессор
400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: li_bugaeva@mail.ru

Лебедева Светлана Александровна, старший научный сотрудник, лаборатории синтеза
противовирусных средств НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета,
кандидат биологических наук
400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: lebedeva.farm@mail.ru

Текутова Татьяна Валерьевна, младший научный сотрудник лекарственной безопасности
НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: lebedeva.farm@mail.ru

Коржова Татьяна Михайловна, младший научный сотрудник лекарственной безопасности
НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: bundikova1@mail.ru

Гетманенко Андрей Юрьевич, младший научный сотрудник лекарственной безопасности
НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета
400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1а, тел. (8442) 942423, (8442) 971534, e-mail: dustgod@mail.ru