

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛА БИШОФИТ ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) НА ГЕМОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС КРЫС В УСЛОВИЯХ МАГНИЙДЕФИЦИТНОЙ ДИЕТЫ

EFFECT OF ORAL MINERAL BISCHOFIT ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) ON HAEMOBIOLOGICAL STATE IN RATS FED WITH MAGNESIUM- DEFICIENT DIET

**А.А. Спасов, И.Н. Иежица, М.В. Харитоновна, М.С. Кравченко,
А.Ю. Стуковина, Л.В. Науменко**
**A.A. Spasov, I.N. Iezhitsa, M.V. Kharitonova, M.S. Kravchenko, A.Yu.
Stukovina, L.V. Naumenko**

Кафедра фармакологии и НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета.
Department of pharmacology and Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University
E-mail: farm@interdacom.ru

РЕЗЮМЕ: В данной работе было изучено влияние Mg хлорида в чистом виде и в комбинации с витамином B_6 на гемобиологический статус при пероральном введении в условиях алиментарного дефицита магния. У магний-дефицитных животных отмечалось повышение вязкости цельной крови, эритроцитов, плазмы, агрегации тромбоцитов, укорачивалось время образования нитей фибрина. В результате экспериментов установлено, что введение исследуемых солей магнийдефицитным животным ведет к нормализации вязкости крови, агрегации тромбоцитов, скорости образования нитей фибрина у магнийдефицитных животных. При этом исследуемые соли магния в ряде случаев превосходили по активности препарат сравнения магне $B_6^{\text{®}}$.

ABSTRACT: Effect of oral mineral bischofit ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) alone and in combination with pyridoxine on haemobiological state in rats fed with magnesium-deficient diet was investigated. Magnesium-deficient diet in rats resulted in increased whole blood viscosity, red blood cells suspension viscosity, poor platelet plasma viscosity, ADP- and collagen-induced platelet aggregation. In our study administration of Mg salts resulted in normalization of blood viscosity, erythrocyte aggregation, ADP- and collagen-induced platelet aggregation, fibrin formation time. It was established, that $MgCl_2$ can be more beneficial in the treatment of haemobiological alteration in magnesium deficiency than Magne $B_6^{\text{®}}$.

Первые сообщения о потенциальном угнетающем действии магния на свертывающую систему крови появились в 1927 году в работах Shionoya Y.[5] С тех пор было проведено множество исследований с целью объяснения механизма влияния магния на процессы свертывания крови, агрегацию тромбоцитов и фибринолиз. Несмотря на несомненный интерес

ученых к роли магния в патогенезе гемореологических нарушений, к настоящему времени влияние различных солей магния на гемобиологический статус в сравнительном аспекте в условиях дефицита магния не изучалось.

Цель работы

Изучение влияния раствора очищенного минерала бишофит ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) и его комбинации с витамином B_6 на свертываемость крови, агрегацию тромбоцитов и различные параметры гемостаза при пероральном введении в условиях алиментарного дефицита магния.

Методика исследования

Эксперименты были выполнены на 70 белых крысах-самцах, исходной массой 170-250 г. Первая «интактная» группа животных составляла контроль. Для моделирования гемобиологических изменений у остальных крыс вызывали алиментарный дефицит магния с помощью магнийдефицитной диеты фирмы ICN Biomedicals Inc. Интактные животные получали полноценную магнийсбалансированную диету.

Содержание магния в плазме и эритроцитах определяли спектрофотометрически по цветной реакции с титановым желтым [3]. После развития у животных гипомagneзии средней тяжести (концентрация магния в эритроцитах ниже 1,4 ммоль/л) исследуемые соли и препараты магния – Mg хлорид в чистом виде (продукт очистки минерала бишофит), и в комбинации с витамином B_6 , препарат сравнения магне $B_6^{\text{®}}$ (Mg лактат с витамином B_6) – вводились перорально – в дозе 50 мг элементарного магния на кг веса животного в течение 20 дней до полной компенсации уровня магния в плазме и эритроцитах. Витамин B_6 добавлялся к субстанции Mg хлорида в дозе 5 мг/кг.

На 20 день введения солей магния у животных производился забор крови из брюшной аорты под эфирным наркозом. Для оценки влияния исследуемых препаратов на гемореологический статус животных образцы крови приводились к единому гематокриту (45%).

В ходе экспериментов определяли вязкость крови и плазмы на анализаторе крови реологическом АКР-2 (Россия), величину гематокрита путем центрифугированием капилляров с образцами крови на Nematocrit Centrifuge GM-70 ("Elmi", Латвия). Вязкость взвеси эритроцитов оценивали методом вискозиметрии при стандартизованном гематокрите 45%. Агрегацию тромбоцитов исследовали на богатой тромбоцитами плазме [2] с помощью анализатора агрегации тромбоцитов фирмы «Биола» (Россия) [4]. Тромбиновое, протромбиновое, активированное парциальное тромбoplastиновое время и время образования нитей фибрина определялись на гемоагулометре "SOLAR" с использованием наборов реактивов производства «Технология – стандарт» (Россия) [1].

Результаты и обсуждение

В результате исследований было показано, что к 8 неделе магнийдефицитной диеты у животных уровень магния в эритроцитах в среднем снижался на 56%, в плазме – на 47% ($p \leq 0,05$).

Снижение уровня магния в организме животных сопровождалось изменением ряда гемобиологических параметров. Так, к 8 неделе диеты в группе магнийдефицитных крыс произошло статистически значимое увеличение показателей вязкости крови во всем диапазоне скоростей сдвига. При скорости сдвига 200 c^{-1} , 50 c^{-1} , 10 c^{-1} показатели вязкости крови превышали величины контрольной группы в среднем на 19%, 43% и 85% соответственно. Индекс агрегации эритроцитов достоверно увеличился на 36% по сравнению с интактными животными.

В эксперименте в группе магнийдефицитных животных отмечались изменения структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов, что подтверждается уменьшением вязкости взвеси эритроцитов. Так, при скоростях сдвига 200 c^{-1} , 50 c^{-1} и 10 c^{-1} наблюдается достоверное увеличение вязкости взвеси эритроцитов по отношению к контрольной группе крыс на 20,76%, 12,71% и 18,80% соответственно.

В условиях алиментарного дефицита магния у животных происходило повышение процессов агрегации тромбоцитов. При добавлении индуктора АДФ в концентрации 0,5 мкмоль индекс агрегации статистически значимо увеличился на 55,45%, что свидетельствует о повышенной стимуляции обратной первичной волны агрегации тромбоцитов в группе магнийдефицитных животных. Процессы полной активации тромбоцитов, выделения гранулярного содержимого и, тем самым, включения отсроченной вторичной волны агрегации тромбоцитов исследовали при добавлении АДФ-индуктора в концентрации 5,0 мкмоль. При этом, наблюдалось достоверное увеличение степени агрегации на 66,19%. В колла-

ген-индуцированной агрегации степень агрегации в группе магнийдефицитных животных повысилась на 63,21% ($p \leq 0,05$), что указывает на увеличение сосудистого механизма агрегации тромбоцитов. Вязкость бедной тромбоцитами плазмы, при скорости сдвига 200 c^{-1} , статистически значимо увеличилась на 15,72%. Увеличение вязкости бедной плазмы может быть связано с достоверным по отношению к группе интактных крыс уменьшением времени образования нитей фибрина в группе магнийдефицитных животных на 26,65%. При этом, в данной группе показатели тромбинового и протромбированного времени, а также активированного парциального тромбoplastинового времени (АПТВ) по сравнению с интактными крысами статистически значимо не изменялись.

При пероральном введении исследуемых солей магнийдефицитным животным происходило восстановление уровня магния в плазме и эритроцитах. Рассчитанные методом регрессионного анализа сроки полной компенсации алиментарного дефицита магния в эритроцитах, для группы животных, получавших Mg хлорид в комбинации с витамином B_6 , соответствовали 4 суткам, Mg хлорид – 12 суткам и магне B_6° – 8 суткам.

В условиях восстановления уровня магния отмечалась нормализация гемобиологического статуса магнийдефицитных животных. Так, к 20 дню введения солей магния при скорости сдвига 200 c^{-1} в группе животных, получавших Mg хлорид в комбинации с витамином B_6 , вязкость крови снизилась на 24,43%, в группах Mg хлорида и магне B_6° на 22,93% и 10,81% соответственно, по сравнению с магнийдефицитными животными (данные статистически незначимы). При скорости сдвига 50 c^{-1} в группах Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 и Mg хлорида произошло достоверное снижение вязкости крови – на 35,69% и 35,09% соответственно, при этом в группе магне B_6° изменения носили статистически незначимый характер. При скорости сдвига 10 c^{-1} снижение вязкости крови в группе Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 составило 50,71% ($p \leq 0,05$), а для групп Mg хлорида и магне B_6° – 48,7% и 43,23% ($p \leq 0,05$) соответственно. Полученные данные подтверждаются снижением индекса агрегации эритроцитов в группе Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 на 34,72% ($p \leq 0,05$), в группах Mg хлорида и магне B_6° – на 32,56% и 35,65% ($p \leq 0,05$) относительно группы магнийдефицитных животных. Статистически значимых различий между экспериментальными группами, получавшими соли магния, обнаружено не было.

Вязкость взвеси эритроцитов при скорости сдвига 200 c^{-1} в группе Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 снизилась на 18,02% ($p \leq 0,05$), а в группах Mg хлорида и магне B_6° – на 20,49% и 14,69% ($p \leq 0,05$) соответственно. При средней скорости сдвига (50 c^{-1}) в группе Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 данный показатель уменьшался на 14,9%, в группах Mg хлорида и магне B_6° – на 19,21% и 10,23%, по отношению к магнийдефицитным животным (данные статистически недостоверны). Наибольшую эффективность исследуемые соли магния проявили

при низкой скорости сдвига (10 с^{-1}). Так для группы животных, получавших Mg хлорид в комбинации с витамином B_6 , снижение вязкости взвеси эритроцитов составило 23,44% ($p \leq 0,05$), Mg хлорид и магне $B_6^{\text{®}}$ – 19,49% ($p \leq 0,05$) и 15,19% соответственно. Достоверных различий между группами, получавшими соли магния, обнаружено не было.

В условиях компенсации дефицита магния наблюдалось ингибирование процессов агрегации тромбоцитов. Степень агрегации в коллаген-индуцированной агрегации в группе животных, получавших Mg хлорид в комбинации с витамином B_6 , максимально снизилась на 26,94%, в группах Mg хлорида и магне $B_6^{\text{®}}$ – на 74,54% и 13,87% соответственно, по сравнению с магнийдефицитными животными. При этом, по данному показателю Mg хлорид статистически значимо превосходил другие исследуемые соли магния.

Комбинация Mg хлорида с витамином B_6 , по сравнению с магнийдефицитными животными ингибировала процесс агрегации (АДФ 5 мкмоль) на 27,96%, Mg хлорид – на 47,48% ($p \leq 0,05$), магне $B_6^{\text{®}}$ – на 18,25%. Добавление АДФ-индуктора в концентрации 0,5 мкмоль показало уменьшение секреторной активности тромбоцитов в группах, получавших соли магния. Так, в группе Mg хлорида с витамином B_6 индекс агрегации снизился на 40,66% ($p \leq 0,05$), а в группах Mg хлорида и магне $B_6^{\text{®}}$ – на 52,37% ($p \leq 0,05$) и 27,54% соответственно, по сравнению с магнийдефицитными животными. Статистически значимых различий между исследуемыми солями магния обнаружено не было.

Уменьшение вязкости бедной тромбоцитами плазмы при скорости сдвига 200 с^{-1} оказалось статистически незначимым во всех исследуемых группах. Время образования нитей фибрина в группе Mg хлорида в комбинации с витамином B_6 достоверно увеличилось на 47,37%, в группах Mg хлорида и магне $B_6^{\text{®}}$ – на 51,74% и 32,57% соответственно, по сравнению с магнийдефицитными животными.

Заключение

После курса введения исследуемых солей магнийдефицитным животным наблюдалось восстановление уровня магния в плазме и эритроцитах. При этом комбинация Mg хлорида с витамином B_6 по величине компенсации дефицита магния превосходила Mg хлорид и препарат сравнения магне $B_6^{\text{®}}$. В условиях компенсации дефицита магния отмечалось снижение вязкости крови во всем диапазоне скоростей сдвига, но наиболее выраженное влияние на данные показатели отмечено при низких скоростях сдвига, что может свидетельствовать о более выраженном влиянии солей магния на агрегационный компонент показателей. Наблюдалось понижение вязкости взвеси эритроцитов и вязкости бедной тромбоцитами плазмы, ингибирование процессов агрегации эритроцитов и АДФ-, коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов, увеличение времени образования нитей фибрина по сравнению с диетой. При этом, исследуемые соли магния в ряде случаев (влияние на вязкость крови и агрегацию тромбоцитов) превосходили по активности препарат сравнения магне $B_6^{\text{®}}$, нормализуя микроциркуляторные нарушения у животных с дефицитом магния.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Основы диагностики нарушений гемостаза / Баркаган З.С., Момот А.П. – М.: «Ньюдиамед», 2001. – 285 с.
2. Люсов В.А. Современные проблемы терапии нарушений реологических свойств крови у больных ишемической болезни сердца / Люсов В.А., Савенков М.П. // Кардиология. – 1998. – №5. – С. 5-8.
3. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике – М.: Медицина, 1987. – С. 266-267
4. Born G.V. Effects of the numbers and sizes of platelet aggregates on the optical density of plasma / Born G.V., Hume M. // Nature. – 1967. – Vol.215. – № 5105. – P .1027-1029.
5. Sacha T. The effect of magnesium on blood co-agulation--state of the art literature review from 1959 to 1995 / Sacha T., Skotnicki A.B. // Przegl Lek. – 1997. – Vol.54. – №2. – P. 122-5.

