

© А.А.Спасов, И.Н.Иежица, М.В.Харитоновна, М.С.Кравченко, Г.Л.Снигур, В.Б.Писарев, 2008
УДК 616.613-003.7-08.546.46]-092.4

А.А. Спасов¹, И.Н. Иежица¹, М.В. Харитоновна¹, М.С. Кравченко¹,
Г.Л. Снигур², В.Б. Писарев¹

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЛЕЙ МАГНИЯ В КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАЛЬЦИЙ- ФОСФАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

A.A. Spasov, I.N. Iejitsa, M.V. Haritonova, M.S. Kravchenco, G.L. Snigur,
V.B. Pisarev

THE EXPERIMENTAL BASIS FOR THE EFFICIENCY OF MAGNESIUM SALTS IN THE CORRECTION OF THE EXPERIMENTAL CALCIUM-PHOSPHATE NEPHROLITHIASIS

¹Научно-исследовательский институт фармакологии, ²кафедра патологической анатомии Волгоградского государственного медицинского университета, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ. Изучение влияния солей магния на развитие кальций-фосфатного нефролитиаза. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** 42 белые крысы-самцы находились на кальцийизбыточной диете в течение 70 дней (содержание элементарного кальция в диете было в 1,8 раза выше суточной потребности). После того, как у животных с моделируемой патологией уровни кристаллурии и кальциурии стали достоверно отличаться от контрольных, им перорально через зонд вводили магния хлорид, магния L-аспарагинат, их комбинации с витамином В₆, магния сульфат и магне В₆ в дозе 50 мг элементарного магния на 1 кг массы тела. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Через 70 дней диеты у животных отмечался высокий уровень кальция и фосфатов в моче (на 49% и 40% выше, чем в группе интактного контроля), в 2 раза выросло соотношение Ca/Mg мочи, появилась кристаллурия. Объемная доля кальцификатов в почечной паренхиме составила 14%. В группах, получавших соли магния и их комбинации с витамином В₆, отмечался более низкий уровень кальция и фосфатов в сыворотке крови и моче, меньшая выраженность кристаллурии, меньший объем и размер кальцификатов. Наиболее эффективными оказались магния L-аспарагинат, его комбинация с витамином В₆ и магне В₆. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Представляется перспективным дальнейшее изучение данных солей магния в качестве средств для лечения кальций-фосфорного нефролитиаза.

Ключевые слова: кальция фосфат, гиперкальциурия, нефролитиаз, магний, магния хлорид, магния L-аспарагинат, пиридоксина гидрохлорид.

ABSTRACT

THE AIM. To study the influence of magnesium salt on the development of calcium-phosphate nephrolithiasis. **MATERIALS AND METHODS.** 42 male rats were on a calcium superfluous diet during 70 days (the content of elementary calcium in the diet exceeded in 1.8 times the normal daily need). After the level of crystaluria and calciuria of the animals with model-based pathology was reliably different from the control group, magnesium chloride, magnesium L – asparaginat, its combinations with vitamin B₆, magnesium sulphate and magne-B6 in the dose of 50 mg of elementary magnesium on kg body weight was introduced per os through the stomach pump. **RESULTS.** After 70 days of the diet was noted the higher level of calcium and phosphate in the urine (to 49 % and 40 % than in the control group), twice increased the urine Ca/Mg ratio, appeared crystaluria. Inclusion volume fraction of calcificates in renal parenchyma was 14 %. In groups receiving magnesium salts and its combinations with vitamin B₆, was noted the lower level of calcium and phosphates in blood serum and urine, lower extend of crystaluria, lower volume and size of calcificates. The most effective was magnesium L – asparaginat, its combination with vitamin B₆ and magne-B6. **CONCLUSION.** The further study of following magnesium salts as the remedy for the treatment of calcium-phosphate nephrolithiasis seems very promising.

Keywords: calcium-phosphate, hypercalciuria, nephrolithiasis, magnesium, magnesium chloride, magnesium L – asparaginat, piridoxinum hydrochloride.

ВВЕДЕНИЕ

Мочекаменная болезнь – одно из наиболее часто встречающихся урологических заболеваний,

при этом у 70–80% пациентов в состав камней входят кальция оксалат и кальция фосфат [1]. При этом фосфат кальция может служить основой для образования ядра кристаллов кальция оксалата in vitro и in vivo и усиливает агрегацию кристаллов кальция оксалата [2, 3]. A. Schmiedl, P.O. Schwillе пока-

Спасов А.А. 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1. НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета. E-mail Farm@interda.com.ru

**Состав кальцийсбалансированной
и гиперкальциевой полиминеральной смеси
(Parmar N.S., 2006)**

Состав микроэлементов	Гиперкальциевая смесь, г/кг	Кальцийсбаланси- рованная смесь
Кальция гидрофосфат	560	312
Хлорид натрия	69	69
Калия фосфат	230	230
Калия хлорид	112	112
Магния карбонат	35	35
Магния сульфат	20	20
Карбонат цинка	1,6	1,6
Карбонат меди	0,3	0,3
Селенит натрия	0,01	0,01
Сульфат хром калия	0,55	0,55
Йодид калия	0,01	0,01
Крахмал	0	250

зали, что у больных идиопатической возвратной гиперкальциемией, сопровождающейся нефролитиазом, часто наблюдается снижение уровня магния в эритроцитах [4]. Необходимо отметить, что в ряде регионов жесткость воды обусловлена именно солями кальция при относительно низком содержании солей магния, что является фактором риска развития нефролитиаза.

Целью настоящей серии экспериментов было исследование влияния солей магния на литогенность мочи при гиперкальциевой диете.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования влияния солей магния на формирование кальций-фосфатного нефролитиаза эксперименты были выполнены на 48 белых беспородных крысах-самцах, исходной массой 180–250 г. Первая «интактная» группа животных составляла контроль. Остальные крысы получали диету, содержащую казеин (20%), крахмал (70%), куку-

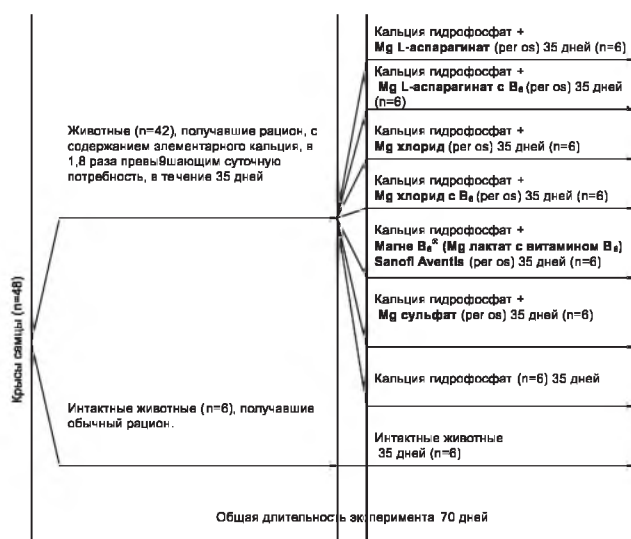


Рис. 1. План исследования по изучению влияния солей магния на уролитиаз в условиях гиперкальциевой диеты.

рузное масло (5%), DL-метионин (0,3%), холина битартрат (0,2%), ICN поливитаминовую смесь (1%), полиминеральную смесь AIN-76 (3,5%) с высоким содержанием кальция гидрофосфата (содержание элементарного кальция в 1,8 раза выше суточной потребности) (табл. 1).

План исследования представлен на рис. 1.

В моче и плазме крови уровень кальция оценивали колориметрическим методом по реакции образования окрашенного комплекса с о-крезолфталейном, неорганических фосфатов – с молибдатом аммония, креатинина – по реакции Яффе с использованием стандартных наборов фирмы «Лаксма» (Чехия). Содержание магния определяли в плазме, эритроцитах и моче животных спектрофотометрическим методом по цветной реакции с титановым желтым по методу Н.О. Kunkel, Р.В. Pearson [7]. Сбор мочи крыс осуществляли в метаболических камерах после пероральной водной нагрузки в течение суток. Для изучения мочевого осадка и измерения рН отбиралось 1 мл из первой трехчасовой порции мочи, центрифугировали ее при 3000 об/мин и изучали 10 мкл осадка под малым (ок. 15, об. 9) и большим (ок. 15, об. 40) увеличением микроскопа Биолам ЛОМО (г. Санкт-Петербург). В процессе микроскопии оценивался вид кристаллов. Уровень оксалатов в моче определялся титриметрически по методу Сивориновского [8]. Для оценки функции почечных канальцев рассчитывались следующие относительные показатели:

Фракционная экскреция магния (ФЭМg)[9]:

$$\text{ФЭМg} = \frac{U(\text{Mg}) \times P(\text{Cr})}{0.7 \times P(\text{Mg}) \times U(\text{Cr})} \times 100\%,$$

где U(Mg) и U(Cr) – концентрация соответственно магния и креатинина в моче, ммоль/л; P(Mg) и P(Cr) – концентрация соответственно магния и креатинина в плазме крови, ммоль/л.

Фракционная экскреция кальция/фосфатов (ФЭСа/Р) [10]:

$$\text{ФЭСа/Р} = \frac{U(\text{Ca/P}) \times P(\text{Cr})}{P(\text{Ca/P}) \times U(\text{Cr})} \times 100\%,$$

где U – концентрация кальция/фосфора/креатинина в моче, ммоль/л; P – концентрация кальция/фосфатов/креатинина в плазме крови, ммоль/л.

Для оценки функциональной активности клубочков рассчитывался клиренс креатинина Cl(Cr):

$$\text{Cl(Cr)} = \frac{U(\text{Cr}) \times V}{P(\text{Cr}) \times 24 \times 60},$$

где U(Cr) – концентрация креатинина в суточной

моче, ммоль/л; P(Cr) – концентрация креатинина в плазме крови, ммоль/л; V – суточный диурез, мл.

Также оценивались отношение концентрации кальция к концентрации магния и концентрации креатинина к концентрации оксалата в суточной моче [11]. Последний показатель косвенно характеризует зависимость функциональной активности клубочков от уровня оксалатов в моче.

После того, как у животных с моделируемой патологией уровни кристаллурии и кальциурии стали достоверно отличаться от контрольных, им через зонд вводили соли магния: Mg L-аспарагинат и Mg хлорид в чистом виде и в комбинации с витамином B₆, Mg сульфат, а также магнийсодержащий препарат магне B₆ (Mg лактат с витамином B₆) фирмы Sanofi Aventis (Франция) в дозе 50 мг элементарного магния на 1 кг массы тела. Соотношение магний/пиридоксин составляло 10:1.

Через 35 дней введения солей забой животных проводили методом декапитации под эфирным наркозом с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 50258-92, ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96).

Для морфологических исследований почки фиксировали в течение 24 часов в нейтральном забуференном 4% растворе формалина (pH 7,4). Заливали в парафиновые блоки по общепринятым морфологическим методикам. На санном микротоме изготавливали поперечные срезы почек толщиной 3–5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. С помощью программы «ВидеоТестМорфо-4» (Россия, СПб, 2004) определяли объемную долю кальцификатов (%) и их размеры (мкм²).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 6.0 с использованием однофакторного дисперсионного анализа и критерия Дункана.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данных исследованиях через 35 дней после начала экспериментальной диеты масса тела животных и диурез достоверно не изменились. У крыс, получавших диету, содержащую избыточные количества кальция, отмечалось статистически значимое увеличение в моче количества кристаллов кальция фосфата (с 2 ± 1 до 15 ± 4 ; $p=0,005$), концентрации кальция (с $3,43 \pm 0,24$ до $4,80 \pm 0,25$ ммоль/л, $p=0,001$), концентрации фосфатов (с $18,02 \pm 0,72$ до $26,29 \pm 1,46$ ммоль/л, $p=0,00027$). Соотношение Ca/Mg мочи возросло на 61% ($p=0,018$). Уровень оксалатов, pH мочи, клиренс креатинина у животных, получавших гиперкальциевую диету, достоверно не изменились (табл. 2).

В условиях гиперкальциевой диеты снизился уровень магния в плазме крови (с $1,17 \pm 0,03$ до $1,10 \pm 0,02$ ммоль/л, $p=0,07$), эритроцитах (с $1,82 \pm 0,02$ до $1,75 \pm 0,03$ ммоль/л, $p=0,048$) и моче (с $9,10 \pm 0,65$ до $8,27 \pm 1,19$ ммоль/л, $p=0,526$). В плазме крови выросла концентрация кальция (с $2,36 \pm 0,15$ до $2,95 \pm 0,24$ ммоль/л, $p=0,044$) и фосфатов (с $1,19 \pm 0,084$ до $1,57 \pm 0,065$ ммоль/л, $p=0,0021$) (табл. 3).

Фракционная экскреция кальция и фосфатов у животных с экспериментальной патологией возросла на 39,5% и 34% соответственно. Фракционная экскреция магния увеличилась на 18,7% ($p=0,327$) (см. табл. 3).

После формирования статистически значимой экспериментальной патологии животным в течение 35 дней вводили соли магния.

В дальнейшем, в группе, на протяжении 10 недель получавшей только диету, обогащенную кальцием фосфатом, патология прогрессировала: так, уровень кальция и фосфатов в моче вырос на 67% ($p<0,0001$) и 60% ($p<0,0001$) соответственно, усилилась кристаллурия (до 79 кристаллов в 10 мкл мочевого осадка, $p<0,0001$). Концентрации магния и оксалатов в моче снизились на 17% ($p=0,015$) и 22% ($p=0,085$) соответственно. Возросли фракционная экскреция фосфора – на 64% ($p=0,011$), фракционная экскреция кальция – на 70% ($p<0,0001$), фракционная экскреция магния – на 43% ($p=0,089$). Повышение в плазме крови концентрации кальция на 25% ($p=0,0044$) и фосфатов на 24% ($p=0,0072$) сопровождалось снижением уровня магния в плазме крови на 23% ($p=0,0011$), в эритроцитах – на 12% ($p=0,0034$). Клиренс креатинина достоверно не изменился. Отмечено увеличение соотношения Ca/Mg в моче в 2 раза ($p<0,0001$) (см. табл. 2). Масса животных и диурез статистически значимо не различались.

При морфологическом исследовании в группе животных, получавших магний-сбалансированную кальций-избыточную диету, отмечалось большое количество крупных ($205,3$ мкм²) кальцификатов во всех отделах мозгового вещества и собирательных трубочках, объемная доля которых составила 14%. В корковом веществе патологические включения отсутствовали (табл. 4; рис. 2).

У животных, получавших соли магния, по совокупности лабораторных показателей нефролитиаз протекал в более легкой форме по сравнению с группой экспериментальной патологии.

На 71-й день у животных, которым вводили изучаемые соли магния, отмечался статистически значимо более низкий уровень фосфатов, кальция и кристаллов в моче, чем в группе, получающей диету, перенасыщенную кальцием.

Таблица 2

Влияние солей магния на некоторые показатели мочи при пероральном введении (50 мг элементарного магния /кг массы тела животного) в условиях диеты с высоким содержанием кальция, 70-й день диеты/ 35-й день введения солей, $\bar{X} \pm m$

Показатель	F-статистика	Интактный контроль	Диета	Mg аспарагинат B_6 + диета	Mg аспарагинат + диета	Mg хлорид B_6 + диета	Mg хлорид + диета	Магне B_6 + диета	Mg сульфат + диета
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Диурез, мл	F(7,40)=0,70; p=0,6719	5,2±0,31 (n=6)	6,45±0,7 (n=6)	5,57±0,40 (n=6)	5,43±0,52 (n=6)	5,68±0,43 (n=6)	5,70±0,34 (n=6)	5,47±0,63 (n=6)	5,17±0,66 (n=6)
Масса тела, г	F(7,40)=0,29; p=0,9523	230,2±16,3 (n=6)	227,5±19,5 (n=6)	217,0±5,9 (n=6)	234,0±18,5 (n=6)	232,7±7,1 (n=6)	238,7±9,9 (n=6)	231,5±8,6 (n=6)	235,0±11,4 (n=6)
Концентрация магния в моче, мм/л	F(7,40)=15,91; p<0,0001	9,30±0,46 (n=6)	7,71±0,60* (n=6)	12,89±0,30* **.#.‡(n=6)	11,61±0,53* ** (n=6)	12,45±0,59* ** (n=6)	11,22±0,44* ** (n=6)	12,40±0,56* ** (n=6)	11,10±0,29* ** (n=6)
Суточная экскреция магния, мкг на 100 г массы тела животного	F(7,37)=3,99; p=0,0024	517,9±45,8 (n=6)	521,35±53,1 (n=6)	793,3±54,3* **.#.‡(n=6)	647,8±57,9 (n=6)	734,5±72,6* **.#.‡(n=6)	646,4±50,0 (n=6)	709,1±92,5* ** (n=6)	583,5±69,9 (n=6)
Фракционная экскреция магния	F(7,40)=1,44; p=0,2185	4,23±0,19 (n=6)	6,08±0,96 (n=6)	5,02±0,38 (n=6)	4,84±0,53 (n=6)	4,91±0,31 (n=6)	5,14±0,29 (n=6)	5,05±0,37 (n=6)	5,47±0,42 (n=6)
Суточная экскреция фосфатов мочи, мг на 100 г. массы	F(7,40)=4,55; p=0,0008	1,30±0,16 (n=6)	2,47±0,16* (n=6)	1,61±0,16** (n=6)	1,57±0,15** (n=6)	1,52±0,14** (n=6)	1,57±0,11** (n=6)	1,52±0,20** (n=6)	1,69±0,30** (n=6)
Концентрация фосфатов в моче, мм/л	F(7,40)=16,79; p<0,0001	17,56±0,66 (n=6)	28,35±1,15* (n=6)	20,14±0,94* **.#.‡(n=6)	21,64±0,51* **.#.‡(n=6)	20,01±0,88* **.#.‡(n=6)	21,16±1,00* **.#.‡(n=6)	20,54±0,67* **.#.‡(n=6)	24,37±0,96* ** (n=6)
Фракционная экскреция фосфора, %	F(7,40)=2,77; p=0,0190	5,81±0,43 (n=6)	9,51±0,84 (n=6)	7,15±0,92 (n=6)	7,08±0,70 (n=6)	6,83±0,54 (n=6)	7,77±0,76 (n=6)	6,46±0,54 (n=6)	7,91±0,97 (n=6)
Концентрация кальция в моче, мм/л	F(7,40)=25,72; p<0,0001	4,32±0,05 (n=6)	7,21±0,31 (n=6)	5,14±0,15* **.#.‡(n=6)	5,36±0,22* **.#.‡(n=6)	5,21±0,18* **.#.‡(n=6)	5,48±0,11* ** (n=6)	5,13±0,15* **.#.‡(n=6)	5,91±0,15* ** (n=6)
Суточная экскреция кальция мочи, мг на 100 г массы	F(7,40)=6,08; p<0,0001	0,19±0,02 (n=6)	0,38±0,03* (n=6)	0,25±0,01** (n=6)	0,24±0,03** (n=6)	0,24±0,02** (n=6)	0,25±0,01** (n=6)	0,23±0,03** (n=6)	0,25±0,03** (n=6)
Фракционная экскреция кальция	F(7,40)=4,30; p=0,0013	0,78±0,04 (n=6)	1,32±0,12* (n=6)	0,97±0,08** (n=6)	0,99±0,11** (n=6)	0,98±0,06** (n=6)	1,06±0,08** (n=6)	0,88±0,10** (n=6)	1,02±0,07* ** (n=6)
Ca/Mg мочи	F(7,40)=25,43; p<0,0001	0,47±0,02 (n=6)	0,96±0,09* (n=6)	0,40±0,016** ‡(n=6)	0,47±0,04** (n=6)	0,42±0,02* ‡ (n=6)	0,49±0,02** (n=6)	0,42±0,02** ‡ (n=6)	0,53±0,02** (n=6)
pH мочи	F(7,40)=4,63; p=0,0007	6,35±0,12 (n=6)	7,20±0,17* (n=6)	7,30±0,19** ‡ (n=6)	6,77±0,15** (n=6)	6,95±0,21** (n=6)	7,35±0,11** (n=6)	6,87±0,23** (n=6)	7,08±0,10** (n=6)
Клиренс креатинина, мл в минуту	F(7,40)=,12; p=0,9966	0,97±0,11 (n=6)	0,91±0,08 (n=6)	0,89±0,04 (n=6)	0,94±0,14 (n=6)	0,93±0,11 (n=6)	0,91±0,07 (n=6)	0,96±0,08 (n=6)	0,89±0,13 (n=6)
Количество кристаллов кальция оксалата в	F(7,40)=11,86; p<0,0001	3±2 (n=6)	79±13* (n=6)	31±8* ** (n=6)	28±4* ** (n=6)	33±6* ** (n=6)	35±6* ** (n=6)	37±4* ** (n=6)	42±5* ** (n=6)

Примечание: Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 6.0 с использованием однофакторного дисперсионного анализа и критерия Дункана; * – отличия достоверны от контроля; ** – отличия достоверны от группы животных, получавших магнией-сбалансированную кальций-избыточную диету; ‡ – достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат + B_6 ; † – достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат; # – достоверно от группы животных, получавших Mg хлорид; ‡ – достоверно от группы животных, получавших магне B_6 (Mg лактат с витамином B_6); † – отличия достоверны от группы животных, получавших Mg сульфат; n – количество животных в группе на момент измерения.

У животных, получавших соли магния, уровень магния в эритроцитах стал статистически значимо выше, чем в норме ($1,80 \pm 0,03$ ммоль/л) и при патологии ($1,59 \pm 0,05$ ммоль/л). По уровню магния в эритроцитах группы, получавшие соли магния, расположились в следующем порядке: Mg хлорид в комбинации с витамином B₆ [$2,14 \pm 0,05$ мМ/л] > Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B₆ [$2,02 \pm 0,06$ мМ/л] > Mg L-аспарагинат [$1,90 \pm 0,04$ ммоль/л] > Магне B₆ [$1,91 \pm 0,02$ мМ/л] > Mg хлорид [$1,88 \pm 0,02$ мМ/л] > Mg сульфат [$1,84 \pm 0,04$ ммоль/л]. При этом были обнаружены следующие статистически значимые различия: группы, получавшие Mg L-аспарагинат и Mg хлорид в комбинациях с витамином B₆ достоверно отличались друг от друга и от остальных изучаемых солей магния. В то же время уровень магния в эритроцитах животных, получавших Mg хлорид и Mg L-аспарагинат, имел статистически значимые различия лишь с группой экспериментальной патологии. Необходимо отметить, что, несмотря на статистически значимые межгрупповые различия, в группах животных, получавших препараты магния, все изменения были в пределах верхних границ физиологической нормы (см. табл. 3).

Концентрация магния в моче после введения солей достоверно повысилась по сравнению группами контроля и патологии. Результат ранжирования групп по показателю концентрации магния в моче выглядит следующим образом: Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B₆ [$12,89 \pm 0,30$ ммоль/л] > Mg хлорид в комбинации с витамином B₆ [$12,45 \pm 0,59$ ммоль/л] > Магне B₆ [$12,40 \pm 0,56$ мМ/л] > Mg L-аспарагинат [$11,61 \pm 0,53$ ммоль/л] > Mg хлорид [$11,22 \pm 0,44$ мМ/л] > Mg сульфат [$11,10 \pm 0,29$ мМ/л]. Группа животных, получавших Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B₆, статистически значимо превосходила группы Mg хлорида и Mg сульфата. Группа Mg L-аспарагината в комбинации с витамином B₆ достоверно отличалась от всех других групп, а Mg хлорида в комбинации с витамином B₆ – от Mg хлорида.

В группах крыс, получавших соли магния, произошло снижение концентрации кальция в плазме крови на 12–14%, фосфатов – на 11–17% по сравнению с группой экспериментальной патологии (см. табл. 3).

Данные изменения сопровождались уменьшением кальциурии и фосфатурии на 20–30%, интенсивность кристаллурии снизилась в 2 раза. После перорального введения солей магния снизилось соотношение Ca/Mg мочи, которое было минимальным в группе, получавшей Mg L-аспарагинат в комбинации с витамином B₆. Клиренс креатинина в

Таблица 3
Влияние солей магния на некоторые показатели крови при пероральном введении в условиях диеты с высоким содержанием кальция, 70-й день диеты/35-й день введения солей, X $\pm$ m

Показатель	F-статистика	Интактный контроль	Диета	Mg аспарагинат B ₆ + диета	Mg аспарагинат + диета	Mg хлорид B ₆ + диета	Mg хлорид + диета	Магне B ₆ + диета	Mg сульфат + диета
Магний плазмы, мМ/л	F(7,40)=16,48; p<0,0001	1,20 $\pm$ 0,05 (n=6)	0,91 $\pm$ 0,03* (n=6)	1,61 $\pm$ 0,07** ^{§,†,‡} (n=6)	1,46 $\pm$ 0,06** [‡] (n=6)	1,58 $\pm$ 0,07** ^{§,†,‡} (n=6)	1,38 $\pm$ 0,04** ^{§,†,‡} (n=6)	1,39 $\pm$ 0,09** (n=6)	1,21 $\pm$ 0,07** (n=6)
Магний эритроцитов, мМ/л	F(7,40)=18,90; p<0,0001	1,80 $\pm$ 0,03 (n=6)	1,59 $\pm$ 0,05* (n=6)	2,02 $\pm$ 0,06** ^{§,†,‡} (n=6)	1,90 $\pm$ 0,04** (n=6)	2,14 $\pm$ 0,05** ^{§,†,‡} (n=6)	1,88 $\pm$ 0,02** (n=6)	1,91 $\pm$ 0,02** [‡] (n=6)	1,84 $\pm$ 0,04** (n=6)
Концентрация креатинина в плазме крови, мМ/л	F(7,40)=1,47; p=0,2062	62,50 $\pm$ 3,17 (n=6)	69,85 $\pm$ 2,83 (n=6)	64,0 $\pm$ 2,20 (n=6)	64,65 $\pm$ 2,68 (n=6)	63,86 $\pm$ 2,80 (n=6)	61,60 $\pm$ 2,37 (n=6)	58,77 $\pm$ 4,06 (n=6)	61,71 $\pm$ 2,69 (n=6)
Концентрация фосфатов в плазме крови, мМ/л	F(7,40)=1,83; p=0,1085	1,19 $\pm$ 0,09 (n=6)	1,47 $\pm$ 0,06* (n=6)	1,26 $\pm$ 0,08** (n=6)	1,30 $\pm$ 0,058** (n=6)	1,28 $\pm$ 0,04** (n=6)	1,22 $\pm$ 0,07** (n=6)	1,26 $\pm$ 0,09** (n=6)	1,30 $\pm$ 0,06** (n=6)
Концентрация кальция в плазме крови, мМ/л	F(7,40)=1,78; p=0,1176	2,13 $\pm$ 0,12 (n=6)	2,67 $\pm$ 0,05* (n=6)	2,33 $\pm$ 0,14** (n=6)	2,31 $\pm$ 0,15** (n=6)	2,33 $\pm$ 0,14** (n=6)	2,30 $\pm$ 0,12** (n=6)	2,32 $\pm$ 0,11** (n=6)	2,39 $\pm$ 0,10 (n=6)

Примечание: Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0 с использованием однофакторного дисперсного анализа и критерия Дункана; * – отличия достоверны от контроля; ** – отличия достоверны от группы животных, получавших магний-сбалансированную кальций-избыточную диету; § – достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат + B₆; † – достоверно от группы животных, получавших Mg L-аспарагинат; ‡ – достоверно от группы животных, получавших Магне B₆; † – отличия достоверны от группы животных, получавших Mg сульфат; n – количество животных в группе на момент измерения.

Таблица 4

Влияние солей магния на морфометрические параметры кальцификатов почечной паренхимы при пероральном введении (50 мг элементарного магния /кг массы тела животного) в условиях диеты с высоким содержанием кальция, 70-й день диеты/ 35-й день введения солей

Группы	Объемная доля, % от поля зрения	Размеры, мкм ²
Интактный контроль	0	-
Диета	14	205,3±15,5
Диета + Mg L-аспарагинат В ₆	4	98,7±7,2*
Диета + L-аспарагинат	5	111,3±14,1 *
Диета + Mg хлорид вит. В ₆	12	193,4±16,4
Диета + Mg хлорид	10	181,2±9,2
Диета + Mg сульфат	5	93,8±3,6*
Диета + магне В ₆	4	55,8±6,1*

Примечание: Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью t критерия Стьюдента; * – отличия достоверны от группы животных, получавших магний-сбалансированную кальций-избыточную диету.

группах животных, получавших соли магния, достоверно не изменился.

По степени коррекции гиперкальциурии и гиперфосфатурии, выделения кристаллов фосфата кальция исследуемые соли проявили сходную эффективность.

В ходе морфологических исследований у животных, получавших соли магния были выявлены следующие изменения. У крыс, которым вводили Mg L-аспарагинат в сочетании с витамином В₆,

отмечались единичные кальцификаты в корковом и мозговом веществе (преимущественно во внутренней зоне). В наружной зоне мозгового вещества определялось умеренное количество кальцификатов (98,7 мкм²), объемная доля которых составила 4% (см. табл. 4; рис. 2). У животных, получавших Mg L-аспарагинат, отмечались единичные кальцификаты в корковом и наружной зоне мозгового вещества (111,3 мкм²). Во внутренней зоне мозгового вещества содержалось большее количество кальцификатов, объемная доля которых достигала 5% (см. табл. 4; рис. 2).

В почках животных, получавших Mg хлорид в сочетании с витамином В₆, отмечалось умеренное количество кальцификатов преимущественно в корковом веществе (193,4 мкм²). Однако во внутренней зоне мозгового вещества количество кальцификатов было выраженное – объемная доля составляла 12% (см. табл. 4; рис. 2).

При введении Mg хлорида отмечалось умеренное количество кальцификатов во внутренней зоне мозгового вещества (объемная доля – 10%, размерами до 181,2 мкм²). В наружной зоне мозгового вещества находились единичные кальцификаты. В корковом веществе патологические отложения солей кальция отсутствовали (см. табл. 4; рис. 2).

При введении Mg сульфата отмечалось выраженное количество кальцификатов во внутренней зоне мозгового вещества. В наружной зоне мозгового вещества находились единичные мелкие кальцификаты (объемная доля – 5%; 93,8 мкм²) (см. табл. 4; рис. 2).

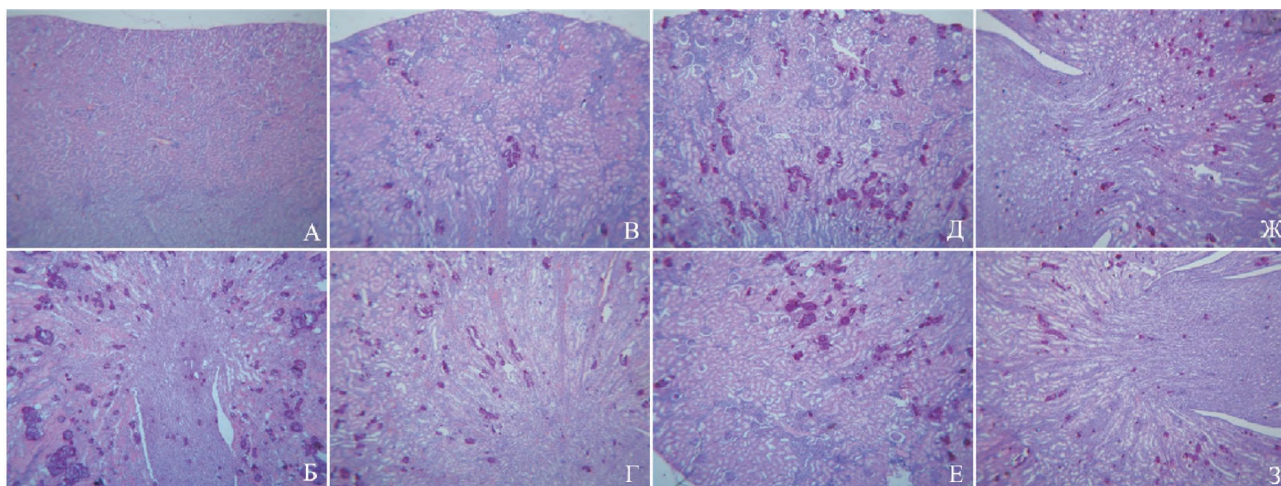


Рис. 2. Влияние солей магния на объемную долю кальцификатов почечной паренхимы при пероральном введении (50 мг элементарного магния на кг массы тела животного) в условиях гиперкальциевого нефролитиаза, 70 день диеты/35 день введения солей. Примечание: А – контроль, Б – магний-сбалансированная кальций-избыточная диета, В – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие Mg сульфат, Г – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие Mg хлорид в комбинации с пиридоксином, Д – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие Mg хлорид, Е – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие магнеВ₆, Ж – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие Mg L-аспарагинат, З – животные на магний-сбалансированной кальций-избыточной диете, получавшие Mg L-аспарагинат в комбинации с пиридоксином. Окраска гематоксилином и эозином. об. ×5, ок. ×10.

В группе животных, получавших магне В₆, отмечались единичные кальцификаты в корковом, наружной и внутренней зонах мозгового вещества (объемная доля – 4%; 55,8 мкм²). Во внутренней зоне мозгового вещества у нескольких животных количество кальцификатов было умеренное (см. табл. 4; рис. 2).

Таким образом, данные проведенного морфологического исследования свидетельствуют о значительном уменьшении объемной доли кальцификатов у животных, получавших Mg L-аспарагинат и его комбинацию с витамином В₆, Mg сульфат, магне В₆, по сравнению с группой животных с нефролитиазом.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований было показано, что у животных, получавших кальцийфосфат-избыточную диету, повышение концентрации кальция и фосфатов в крови и моче сопровождалось снижением уровня магния и оксалатов. Это подтверждает данные об антагонистических отношениях кальция, фосфатов, магния и оксалатов на этапе их адсорбции в кишечнике [12]. Соли магния в больших дозах при пероральном введении приводят к снижению уровня фосфатов и кальция в крови и моче, вследствие чего происходит снижение выраженности кристаллурии, тормозится кальцификация почечной паренхимы. По данным Т. Murayama и соавт., высокая экскреция кальция с мочой напрямую связана с повышенным риском формирования кальций-оксалатных и кальций-фосфатных конкрементов, поэтому снижение экскреции кальция при терапии солями магния в условиях гиперкальциевого диеты является благоприятным фактором [13]. Согласно данным S. Bisaz и соавт., магний на 20 % повышает растворимость фосфатов и препятствует их преципитации [14]. Можно предположить, что выраженный антилитогенный эффект магния L-аспарагината в комбинации с витамином В₆ объясняется повышением биодоступности магния в присутствии пиридоксина [15, 16], а также тем, что аспарагиновая кислота входит в состав ингибитора уролитиаза уропонтин [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате введения в рацион больших количеств кальция гидрофосфата у животных сформировался кальцийфосфатный нефролитиаз. Соли магния при пероральном введении снижали уровень кальция и фосфатов в крови и моче, уменьшали выраженность кристаллурии, препятствовали дальнейшему развитию нефрокальциноза. При этом наиболее эффективными

были: магния L-аспарагинат, его сочетание с витамином В₆, магне В₆ и магния сульфат. Таким образом, представляется перспективным дальнейшее изучение данных солей магния в качестве средств для лечения кальций-фосфатного нефролитиаза.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, региональный грант РФФИ «Поволжье» № 07-04-96606 «Нарушения гомеостаза магния и его коррекция в патогенезе формирования уролитиаза».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 2005; 115 (10): 2598-2608
2. Meyer JL, Smith LH. Epitaxial relationships in urolithiasis. The calcium oxalate monohydrate-hydroxiapatite system. *Clin Sci Mol Med* 1975; 49: 369-374
3. Ohman S, Larsson L, Tiselius HG. Clinical significance of phosphate in calcium oxalate renal stones. *Ann Clin Biochem* 1992; 29 (1) : 59-63
4. Schmiedl A, Schwille PO. Magnesium status in idiopathic calcium urolithiasis-an orientational study in younger males. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34 (5): 393-400
5. Hubbell RB, Mendel LB, Wakeman AJ. A salt mixture for use in experimental diets. *J Nutr* 1937; 14: 273-285
6. Parmar NS, Prakash S. *Screening Methods in pharmacology*, Alpha science International Ltd. Oxford, U.K. 2006; 256-263
7. Меньшиков ВВ, Делекторская ЛН, Золотникова РМ. *Лабораторные методы исследования в клинике: справочник*. Медицина, М., 1987; 266-267
8. Сивориновский ГА. Количественное определение щавелевой кислоты в моче. *Лаб дело* 1969; (7): 401-404
9. Allegra A, Corica F, lentile R et al. Plasma (total and ionized), erythrocyte and platelet magnesium levels in renal transplant recipients during cyclosporine and/or azathioprine treatment. *Magnes Res* 1998; 11 (1): 11-18
10. Garsia-Rodriguez MB, Peres-Garsia CC, Rios-Granja MA et al. Renal handling of calcium and phosphorus in experimental renal hyperparathyroidism in dogs. *Vet Res* 2003; 34: 79-87
11. Рыбина ИЛ, Вошула ВИ. Оценка роли метаболизма оксалата в этиопатогенезе мочекаменной болезни. *БМЖ* 2006; (1): 15-19
12. Ritchie G, Kerstan D, Dai L-Jun. 1,25(OH)₂D₃ stimulates Mg²⁺ uptake into MDCT cells: modulation by extracellular Ca²⁺ and Mg²⁺. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: F868-F878
13. Murayama T, Sakai N, Takano T, Yamada T. Role of the urinary calcium in the growth of calcium stone. *Hinyokika Kyo* 2004; 50 (7): 451-455
14. Bisaz S, Felix R, Neuman NM, Fleisch H. Quantitative determination of inhibitors of calcium phosphate precipitation in whole urine. *Min Electrolyte Metab* 1978; 1: 75-78
15. Iezhitsa IN, Spasov AA, Kravchenko MS et al. Comparative study of magnesium salts' bioavailability in rats fed with magnesium-deficient diet. *J Japan Soc Magnes Res* 2006; 25 (2): 99(153)
16. Firoz M, Graber M. Bioavailability of US commercial preparations. *Magnes Res* 2001; 14 (4): 257-262
17. Addadi L, Weiner S. Interactions between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82 (12): 4110-4114

Поступила в редакцию 10.03.2008 г.

Принята в печать 10.06.2008 г.