

МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА НА УРОВНЕ ГАСТРО-ЭНТЕРАЛЬНОЙ СРЕДЫ У МИНИ-ПИГОВ

Д.А. Ксенофонтов*, А.А. Ксенофонтова

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»
127434, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49

В эксперименте на мини-пигах исследованы этапы метаболизма кальция на уровне энтеральной среды. Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определена концентрация кальция в эндогенных и экзогенных структурах химуса по мере его прохождения в тонком и толстом отделах кишечника, в разных слоях стенки кишечника и в крови, притекающей и оттекающей от кишечника. Установлены закономерности изменения концентрации кальция во фракциях химуса и о его преобладающей аккумуляции в плотной эндогенной фракции в тонком отделе кишечника. С учётом гидратации гликопротеинов полостной слизи и её существования в виде своеобразной энтероплазмы химуса предполагается участие кальция в формировании эндогенных структур и химуса в целом путём перераспределения между растворимыми и фиксированными формами элемента. Выявлена динамика увеличения концентрации кальция в слое слизистых наложений от дистального к проксимальному отделу стенки кишечника. В слизистом эпителии кишечника концентрация кальция в целом ниже, но динамика имеет сходную картину. Артериовенозная разница на уровне пищеварительного тракта свидетельствует о преобладании экскреции элемента в пищеварительную полость. Делается заключение о роли эндогенных структур химуса в поддержании кальциевого гомеостаза не только в гастроэнтеральной среде, но и организма в целом.

Ключевые слова: кишечник, кальций, химус, слизистая оболочка, кровь, гомеостаз

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ксенофонтов Д.А., Ксенофонтова А.А. Метод изучения кальциевого гомеостаза на уровне гастро-энтеральной среды у мини-пигов. *Биомедицина*. 2023;19(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-23-28>

Поступила 11.04.2023

Принята после доработки 03.07.2023

Опубликована 10.09.2023

METHOD FOR STUDYING CALCIUM HOMEOSTASIS AT THE LEVEL OF GASTROENTERAL ENVIRONMENT IN MINIPIGS

Dmitriy A. Ksenofontov*, Anzhelika A. Ksenofontova

Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy
127434, Russian Federation, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49

The stages of calcium metabolism at the enteric medium level were studied in experiments on minipigs. Atomic absorption spectrophotometry was used to determine the concentration of calcium in the endogenous and exogenous structures of the chyme while its passing through the small and large intestines, both in different layers of the intestinal wall and in the blood flowing in and out of the intestine. Regularities of changes in calcium concentration in chyme fractions and its predominant accumulation in the dense endogenous fraction in the small intestine were established. Taking into account the hydration of the glycoproteins of the abdominal mucus and its existence in the form of a kind of enteroplasm of the chyme, it is assumed that calcium is involved in the formation of endogenous structures and chyme as a whole by

redistributing between soluble and fixed forms of the element. The dynamics of the increase in calcium concentration in the layer of mucous deposits from the distal to the proximal section of the intestinal wall was revealed. In the intestinal mucosa, the calcium concentration is generally lower, although the dynamics follows a similar pattern. The arterio-venous difference in the damage of the digestive tract indicates the predominant excretion of the element into the digestive cavity. The conclusion is made about the role of endogenous chyme structures in maintaining calcium homeostasis not only in the gastroenteric environment, but also in the body as a whole.

Keywords: intestines, calcium, chyme, mucous membrane, blood, homeostasis

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Ksenofontov D.A., Ksenofontova A.A. Method for Studying Calcium Homeostasis at the Level of Gastroenteral Environment in Minipigs. *Journal Biomed.* 2023;19(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-23-28>

Submitted 11.04.2023

Revised 03.07.2023

Published 10.09.2023

Введение

Одним из наиболее важных элементов в организме является кальций, который прямо или опосредованно участвует во всех физиологических процессах. Хорошо известно, что алиментарная недостаточность кальция либо патология его обмена приводят к остеомалации или остеопорозу, вызванному одновременной резорбцией минерального и органического компонентов, нарушается передача нервного импульса и мышечное сокращение, свёртывание крови и секреция желёз, дифференцировка и гибель клеток, реализация иммунного ответа [6]. Избыток кальция в рационе может оказаться не менее вредным, хотя в практических условиях такая ситуация маловероятна. Возникающий при нарушениях метаболизма кальция симптоматический комплекс может проявляться снижением продуктивности и нарушением воспроизводительной функции [1].

Несмотря на то, что механизмы абсорбции и поддержания гомеостаза кальция на уровне внутренней среды организма изучены весьма подробно, вопрос о его обмене в полости пищеварительного тракта исследован недостаточно [5, 7]. Концепция постоянства состава химуса и сведения о механизмах, обеспечивающих его гомео-

стазирование, показывает, что энтеральная среда должна сохранять относительно стабильный состав и соотношение масс его ингредиентов, а недостаток веществ в химусе может быть экскретирован из внутренней среды организма. При этом новая концепция о структурно-функциональной организации полости пищеварения указывает на важную роль эндогенных компонентов гастроэнтеральной среды как в обеспечении гомеостазирования химуса, так и в процессах его формирования [2].

Цель работы — выявление закономерностей метаболизма кальция на уровне пищеварительного тракта при участии эндогенных структур химуса.

Материалы и методы

Для изучения метаболизма минеральных элементов на уровне гастроэнтеральной среды был проведён эксперимент на мини-пигах светлогорской популяции на базе ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Предварительно по животным собирался анамнез и проводился клинический осмотр. Условия содержания мини-пигов соответствовали требованиям ветеринарно-санитарных и зоотехнических норм. Для эксперимента была отобрана группа

из четырёх хряков в возрасте 1,5 года и массой 22 кг, получавших полнорационный комбикорм СК-1-18. Животных подвергали общей анестезии препаратом «Золетил 100» с фиксацией на операционном столе в спинном положении. Местная анестезия проводилась подкожно вдоль белой линии брюшной полости подкожно р-ром лидокаина. Под наркозом делали разрез брюшной стенки по белой линии, извлекали брыжейку кишечника, шприцом отбирали артериальную кровь из аорты (*a. abdominalis*) и венозную кровь из желудочной вены (*v. gastrica sinistra*), дуоденальной (*v. duodenalis*), брыжеечной (*v. jejunalis*), вены слепой кишки (*v. colica decstra*), ободочной кишки (*v. caecalis*) и общую венозную кровь из воротной вены печени (*v. portae hepatis*) и каудальной полой вены (*v. cava caudalis*). Затем производили эвтаназию животных путём введения токсичной дозы анестетика. Далее извлекали ЖКТ и брали образцы химуса и стенки из отделов тонкого и толстого кишечника. Химус по разработанной методике фракционировали на пищевые частицы (ПЧ), растворимую (РФ) и плотную эндогенную фракцию (ПЭФ), изменяя реологические показатели химуса путём разведения растворителем с последующим декантированием и центрифугированием супернатанта в течение 10 мин при скорости 5000 об./мин [4].

В стенке каждого отдела тонкого и толстого кишечника выделяли слой слизистых наложений (ССН) по методике, основанной на механической вибрации, в результате которой отделяется поверхностный и относительно рыхло связанный слой слизистых наложений без отслоения самого эпителиального пласта. Полученный супернатант центрифугировали 10 мин при скорости 5000 об./мин. В результате в осадок переходит ССН [3]. Участок кишки после отделения слизистых наложений разделяли, делая соскоб шпателем слизистого слоя (СС) ки-

шечной стенки и очищая серозно-мышечный слой (СМС).

Во всех образцах определяли содержание кальция методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии на приборе «Спектр 5-4». Результаты обработаны статистически с помощью программы MS Office Excel.

Результаты и их обсуждение

Мини-пиги — сравнительно новый вид лабораторных животных, генетически близкий человеку, пищеварение которых видоспецифично на уровне желудка и толстого отдела кишечника, где велика роль симбиотических микроорганизмов. Минеральный анализ компонентов химуса у мини-пигов показал, что уже начиная с двенадцатиперстной кишки кальций кумулируется в ПЭФ, а его концентрация в ней увеличивается в 11,5 раза, с 4 до 46 г/кг сухого вещества в дистальном отделе тонкой кишки, при этом количество растворимого кальция становится минимальным (рис. 1). В толстом отделе кишечника у мини-пигов кальций равномерно распределён между ПЭФ и РФ на уровне 17–24 г/кг сухого вещества. Динамика кальция в ПЧ указывает на увеличение концентрации в дистальном направлении тонкого кишечника с 2,3 до 15 г/кг сухого вещества вследствие опережающего гидролиза органической части, а начиная со слепой кишки, где активизируются симбиотические микроорганизмы, концентрация элемента в ПЧ вновь снижается до 7 г/кг сухого вещества вследствие активного гидролиза нутриентов.

Анализ соотношения минеральных элементов в ПЭФ химуса мини-пигов показал, что в двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишке на долю кальция приходится 50,3%, 65,8%, 68%, 57%, 53% и 57,3% соответственно. Такое количество элемента не случайно и свидетельствует о роли кальция в формировании гастроэнтеральной среды. Необходимо подчеркнуть, что в нативном

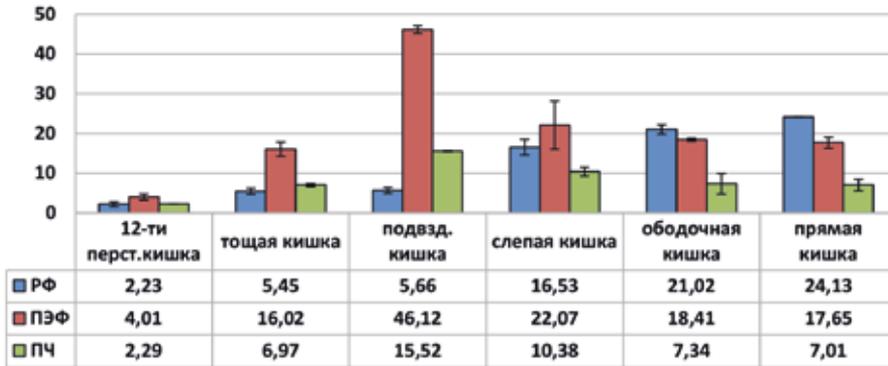


Рис. 1. Концентрация кальция по фракциям химуса у мини-пиггов (г/кг сухого вещества).
Fig. 1. Calcium concentration in chyme fractions of minipigs (g/kg of dry matter).

химусе ПЭФ и РФ представлены единым целым в виде геля энтероплазмы, поэтому распределение кальция между растворимым и связанным фактически образует динамичную систему, которая зависит внешних и внутренних факторов.

Дополнительной характеристикой энтерального гомеостазирования кальция стала его концентрация в стенке кишечника (рис. 2). Минимальная концентрация кальция отмечается в СМС и составляет на про-

тяжении кишечника 0,7–1,9 г/кг сухого вещества, увеличиваясь в сторону толстого отдела кишечника, что является функциональной характеристикой гладкомышечной и соединительной ткани. В слизистой оболочке тонкого и толстого кишечника концентрация кальция в 2,4–4 раза выше, чем в СМО, что, вероятно, связано с активацией абсорбции элемента. В пристеночном слое слизистых наложений тонкой кишки мини-пиггов концентрация кальция в целом

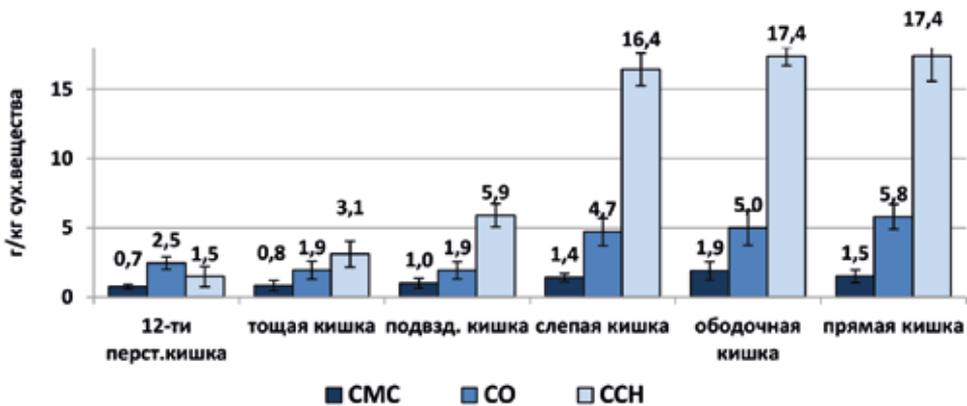


Рис. 2. Концентрация кальция в стенке кишечника у мини-пиггов (г/кг сухого вещества).
Fig. 2. Calcium concentration in the intestinal wall of minipigs (g/kg of dry matter).

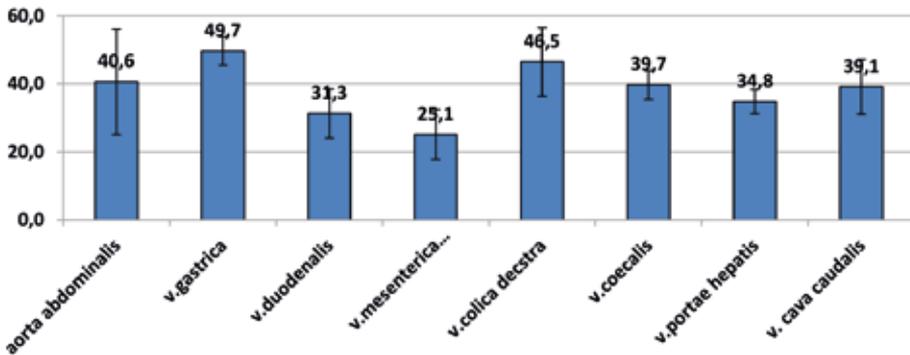


Рис. 3. Содержание кальция в крови у мини-пигов (мг% в сухом веществе).
Fig. 3. The content of calcium in the blood of minipigs (mg% in dry matter).

2–2,5 раза ниже, чем в СО. Максимальная концентрация кальция зафиксирована в ССН, при этом начиная с тонкой кишки она резко возрастает с 3,1 до 17,4 г/кг сухого вещества, что в 3 раза выше, чем в СО.

Являясь двусторонним процессом, транспорт кальция через стенку пищеварительного тракта обеспечивает не только кальциевый гомеостаз во всём организме, но и служит источником элемента для клеток тканей стенки ЖКТ. Однако интенсивность его всасывания и экскреции не одинакова в тех или иных участках пищеварительного канала. Анализ артериовенозной разницы (АВР) по кальцию на уровне ЖКТ у мини-пигов показывает, что лишь в желудке и слепой кишке она является положительной, составляя +22 и +14% соответственно (рис. 3). По-видимому, кислотность желудочного сока и микробиологическое брожение с образованием кислот увеличивает концентрацию растворимого ионизированного кальция, что активизирует абсорбцию элемента.

В тонком кишечнике установлена отрицательная АВР по кальцию, а концентрация элемента в оттекающей крови ниже, чем в притекающей — на 23% в двенадцатиперстной и на 40% в тощей кишке. Таким образом, значительная часть кальция за-

держивается на уровне тонкого кишечника, не поступая в кровь. В итоге снижается концентрация элемента в воротной вене печени, где АВР также отрицательная (–5 мг% в сухого вещества). Несмотря на это, уровень кальция в каудальной вене и аорте практически не отличается, составляя 40,6 и 39,1 мг% в сухом веществе, соответственно, по-видимому, из-за положительной АВР в толстом отделе кишечника.

Заключение

Анализируя материал, полученный в эксперименте на мини-пигах, нужно сказать, что активная кумуляция кальция полостной слизью является физиологической нормой. Кальций, как активный комплексообразователь, взаимодействуя с гидроксильными группами гликопротеинов, неизбежно влияет на пространственную структурированность и химический состав энтероплазмы химуса. Высокая плотность адсорбированных катионов кальция является необходимой не только для ускорения абсорбции, но и для устойчивой организации пространственно-ориентированной структуры молекул гликопротеинов и её с поддержанием при агрессивном воздействии нутриентов и гидролитических ферментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ахполова В.О. Обмен кальция и его гормональная регуляция. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2017;2:38–46. [Akhpolova V.O. Obmen kal'tsiya i ego gormonal'naya regulyatsiya [Calcium metabolism and its hormonal regulation]. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii* [Journal of Fundamental Medicine and Biology]. 2017;2:38–46. (In Russian)].
2. Ксенофонтов Д.А. Общебиологические закономерности в структурно-функциональной организации полости пищеварения. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022;7-2(121):115–118. [Ksenofontov D.A. Obshchebiologicheskie zakonomernosti v strukturno-funktsional'noy organizatsii polostnogo pishchevareniya [Common biological patterns in the structural and functional organization of abdominal digestion]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* [International Research Journal]. 2022;7-2(121):115–118. (In Russian)]. DOI: 10.23670/IRJ.2022.121.7.060.
3. Питран Б.В., Атлавин А.Б., Апсите М.Р. и др. Сорбционные процессы на начальных этапах всасывания в тонкой кишке. В кн.: *Мембранное пищеварение и всасывание*. Рига, 1986:107–109. [Pitrان B.V., Atlavin A.B., Apsite M.R., et al. Sorbtionnyye protsessy na nachal'nykh etapakh vsasyvaniya v tonkoy kishke [Sorption processes at the initial stages of absorption in the small intestine]. V kn.: *Membrannoe pishchevarenie i vsasyvanie* [In: Membrane digestion and absorption]. Riga, 1986:107–109. (In Russian)].
4. Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А., Иванов А.А. Метод изучения полости пищеварения. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016;12(136):110–114. [Polyakova E.P., Ksenofontov D.A., Ivanov A.A. Metod izucheniya polostnogo pishchevareniya [The method of studying oral digestion]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology]. 2016;12(136):110–114. (In Russian)].
5. Bronner F. Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutr. Rev.* 2009;67(2):109–113. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2008.00147.x.
6. Diaz de Barboza G., Guizzardi S., Tolosa de Talamoni N. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(23):7142–7154. DOI: 10.3748/wjg.v21.i23.7142.
7. Kellett G.L. Alternative perspective on intestinal calcium absorption: Proposed complementary actions of Ca(v)1.3 and TRPV6. *Nutr. Rev.* 2011;69(7):347–370. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00395.x.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ксенофонтов Дмитрий Анатольевич*, д.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева»;
e-mail: smu@rgau-msha.ru

Ксенофонтова Анжелика Александровна, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева»;
e-mail: angel-ksen@mail.ru

Dmitriy A. Ksenofontov*, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;
e-mail: smu@rgau-msha.ru

Anzhelika A. Ksenofontova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;
e-mail: angel-ksen@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author