

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

### ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫХ СРЕДСТВ НА ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНЫЕ СВОЙСТВА СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ

Е. В. Климанова<sup>1</sup>, В. А. Макаров<sup>1</sup>, Г. Н. Петрухина<sup>1</sup>, Е. Н. Болотова<sup>2</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>2</sup>

Урографин, омнипак, и ультравист *in vitro* дозозависимо снижают тромборезистентные свойства сосудистой стенки. Данный эффект препаратов не зависит от принадлежности их к ионному или неионному классу, а определяется индивидуальными свойствами. Превентивное введение крысам п-3 полиненасыщенных жирных кислот рыбьего жира в значительной степени защищает интиму сосудов от действия рентгеноконтрастных средств и сохраняет ее антиагрегационную активность.

**Ключевые слова:** рентгеноконтрастные средства, агрегация тромбоцитов, сосудистая стенка

#### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в клинике применяется ряд ионных и неионных рентгеноконтрастных средств (РКС), однако, все они в какой-либо мере могут влиять на различные системы организма, в том числе на свертывающую систему крови и иногда способствуют тромбообразованию [3 – 5, 10]. У врачей и ученых нет четкого представления о механизме воздействия РКС на течение гемостатических реакций, что делает весьма затруднительным, с одной стороны, прогнозирование возникновения и направленности нарушений со стороны свертывающей системы крови при введении РКС, а с другой — разработку методов предупреждения подобных осложнений.

Целью исследования явилось изучение влияния РКС (ионного урографина и неионных ультрависта и омнипака) на тромборезистентные свойства сосудистой стенки и разработка фармакологической профилактики нарушений течения гемостатических реакций, вызванных введением данных диагностических препаратов.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки влияния рентгеноконтрастных средств на свертывающую систему крови в работе использованы три препарата: неионный ультравист-300 — водный раствор N,N-ди[2,3-трийод-5-метоксмацетиламино-N-метиллизофталамида] (“Schering”, Германия), неионный омнипак-300 — водный раствор N,N-бис(2,3-дигидроксипропил)-5-[N-(2,3-дигидроксипропил)ацетамид 2,4,6-триизоталамида (“Amersham Health”, Ирландия) и ионный урографин-76 % — содержащий смесь натриевой и метилглукामीновой солей амидотризоата (“Schering”, Германия).

Изучение влияния РКС на функциональную активность тромбоцитов выполнено на венозной крови здоровых доноров, которую стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия. Для получения богатой тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин, после чего верхний надосадочный слой плазмы переносили в другую пробирку.

Эксперименты по изучению воздействия РКС на тромборезистентные свойства сосудистой стенки проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой 250 – 350 г, у которых под эфирным наркозом извлекали грудной и брюшной отделы аорты [1], которые прополаскивали в трис-НСI буферном растворе (0,05 М, рН 7,5) при 4 °С и разрезали вдоль. Кусочки стенки аорты массой около 9 мг инкубировали с рентгеноконтрастными препаратами при 37 °С в течение 5 мин. После инкубации сосудистую стенку отмывали в трис-НСI буфере и определяли антиагрегационную активность интимы, инкубированной с РКС. Об этой активности судили по степени торможения процесса АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов здоровых доноров, которую инкубировали с аортой 5 мин [1]. В качестве контроля использовали стенку сосуда, не подвергающуюся воздействию РКС.

Агрегацию тромбоцитов изучали методом светорассеяния, предложенным G. G. V. Born [6] на агрегометре фирмы “Chrono-Log Corporation” (США). О степени агрегации судили по максимальной величине падения оптической плотности после окончания реакции ( $A_{max}$ ) по сравнению с исходной величиной. В работе в качестве проагрегантов применяли АДФ (“Boehringer Mannheim”, Австрия) в конечной концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М.

Для изучения защитного действия п-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) рыбьего жира (“Биогал”, Венгрия) на сосудистую стенку беспородным крысам в течение 5 дней ежедневно внутримышечно вводили рыбий жир в дозе 2,5 мл/кг массы, что составляло 75 мкл/кг п-3 ПНЖК в день [7 – 9]. Затем у

<sup>1</sup> ГУ Гематологический научный центр РАМН, Москва, 125167, Новозыковский проезд, 4.

<sup>2</sup> ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва.

животных извлекали аорту, фрагменты которой использовали при оценке влияния РКС на интиму сосудов.

Статистический анализ полученных результатов проводили в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента [2]. Различия между сравниваемыми величинами считали достоверными при уровнях значимости не менее 95 %. Данные в таблицах представлены в виде  $x \pm m_x$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты эксперимента показали, что предварительная 5-минутная инкубация богатой тромбоцитами плазмы с фрагментом интактной аорты приводила к полному подавлению АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. При добавлении к инкубационной смеси урографина, ультрависта и омнипака в концентрациях 200, 100, 50, 20 и 10 мкл/мл отмечена частичная потеря антиагрегационного действия стенки сосудов (таблица). Так, участок сосудистой стенки, предварительно в течение 5 мин проинкубированный с урографинном, при внесении его в богатую тромбоцитами плазму проявлял лишь частичный антиагрегационный эффект, причем степень восстановления процесса образования тромбоцитарных агрегатов зависела от концентрации данного РКС в реакционной смеси ( $23,8 \pm 2,2$  %,  $18,2 \pm 2,0$  %,  $14,7 \pm 1,6$  %,  $8,3 \pm 1,8$  % и  $7,0 \pm 1,8$  % при концентрации урографина 200, 100, 50, 20 и 10 мкл/мл соответственно).

Замена урографина на ультравист приводила к менее выраженному повреждению тромборезистентных свойств сосудистой стенки (таблица). Показано, что при 5-минутной предварительной инкубации фраг-

мента аорты с ультравистом, взятом в концентрации 200 мкл/мл, агрегация тромбоцитов восстанавливалась до  $16,1 \pm 2,1$  %, в концентрации 100 мкл/мл — до  $13 \pm 0,9$  %, в концентрации 50 мкл/мл — до  $12 \pm 1,2$  %, в концентрации 20 мкл/мл — до  $7,8 \pm 1,8$  % и в концентрации 10 мкл/мл — до  $6,5 \pm 2,0$  %. Омнипак вызывал наиболее выраженные изменения тромборезистентных свойств интимы сосудов, которые были особенно заметны при инкубации фрагмента аорты с этим препаратом в низких концентрациях (таблица). При предварительном воздействии на участок сосуда 10 мкл/мл омнипака агрегация тромбоцитов восстанавливалась до  $15,4 \pm 2,4$  %, 20 мкл/мл — до  $15,9 \pm 2,4$  %, 50 мкл/мл — до  $23,4 \pm 4,4$  %, 100 мкл/мл — до  $25,0 \pm 4,2$  % и 200 мкл/мл — до  $26,3 \pm 5,6$  %. Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что степень повреждения тромборезистентных свойств сосудистой стенки зависит не от принадлежности препарата к группе ионных или неионных РКС, а связана, с индивидуальными свойствами каждого конкретного соединения.

*Разработка способа защиты сосудистой стенки от повреждающего действия рентгеноконтрастных средств.* Учитывая, что все исследуемые РКС при контакте с интимой сосудов снижали тромборезистентные свойства последней и тем самым повышали риск развития тромбозов, мы предположили, что превентивное введение веществ, повышающих устойчивость сосудистой стенки к действию повреждающих факторов, может снизить вероятность развития тромбозов, индуцированного локальным воздействием РКС. Известно, что n-3 полиненасыщенные жирные кислоты рыбьего жира повышают противотромботический

**Влияние рентгеноконтрастных средств на антиагрегационное действие фрагментов сосудистой стенки интактных крыс и крыс, получивших n-3 ПНЖК (агрегация тромбоцитов человека,  $A_{\max}$ , %, АДФ-стимулированная)**

РКС	Показатель	Контроль 1	Контроль 2	200 мкл/мл	100 мкл/мл	50 мкл/мл	20 мкл/мл	10 мкл/мл
Урографин	Сосудистая стенка интактных крыс	$46,7 \pm 1,6$	0	$23,8 \pm 2,2^{*o}$	$18,2 \pm 2,0^{*o}$	$14,7 \pm 1,6^{*o}$	$8,3 \pm 1,8^{*o}$	$7,0 \pm 1,8^{*o}$
	Сосудистая стенка крыс после 5-дневного введения n-3 ПНЖК	$47,1 \pm 4,3$	0	$7,1 \pm 3,3^{*o}$	$2,9 \pm 2,3^{*o}$	$0^{*o}$	$0^{*o}$	$0^{*o}$
Ультравист	Сосудистая стенка интактных крыс	$48,3 \pm 1,7$	0	$16,1 \pm 2,1^{*o}$	$13,0 \pm 0,9^{*o}$	$12,0 \pm 1,2^{*o}$	$7,3 \pm 1,8^{*o}$	$6,5 \pm 2,0^{*o}$
	Сосудистая стенка крыс после 5-дневного введения n-3 ПНЖК	$49,3 \pm 2,4$	0	$6,9 \pm 2,3^{*o}$	$5,3 \pm 1,8^{*o}$	$2,8 \pm 1,5^{*o}$	$0^{*o}$	$0^{*o}$
Омнипак	Сосудистая стенка интактных крыс	$49,5 \pm 2,1$	0	$26,3 \pm 5,6^{*o}$	$25,0 \pm 4,2^{*o}$	$23,4 \pm 4,4^{*o}$	$15,9 \pm 2,4^{*o}$	$15,4 \pm 2,4^{*o}$
	Сосудистая стенка крыс после 5-дневного введения n-3 ПНЖК	$46,9 \pm 2,1$	0	$1,6 \pm 0,6^{*o}$	$1,1 \pm 0,3^{*o}$	$0^{*o}$	$0^{*o}$	$0^{*o}$

**Примечание.** Контроль 1. Величина агрегации тромбоцитов человека в отсутствие фрагмента сосудистой стенки крыс.

Контроль 2. Величина агрегации тромбоцитов человека в присутствии фрагментов сосудистой стенки контрольных и опытных животных без предварительной инкубации с РКС. Различия достоверны ( $p \leq 0,05$ , метод для сопряженных величин) по отношению: \* — к контролю 1,  $^o$  — к контролю 2.

потенциал интимы сосудов [7, 8]. Кроме того, ПНЖК даже в высоких дозах (15 – 20 г/кг) не обладают токсическими свойствами, а их применение не имеет серьезных противопоказаний [7, 8]. Поэтому мы сочли целесообразным изучить возможный защитный эффект ПНЖК рыбьего жира по отношению к тромборезистентным свойствам сосудистой стенки в условиях локального воздействия на нее урографина, ультрависта и омнипака.

Результаты эксперимента показали, что сосудистая стенка крыс, получавших ПНЖК, при воздействии на нее РКС достоверно лучше сохраняла свои тромборезистентные свойства по сравнению с сосудистой стенкой интактных животных. Так, при проведении эксперимента с использованием фрагмента аорты крыс, которым вводили рыбий жир, добавление к инкубационной смеси урографина в концентрациях 50, 20 и 10 мкл/мл вообще не влияло на антиагрегационное действие интимы сосуда, а при добавлении 200 и 100 мкл/мл урографина агрегация тромбоцитов повышалась лишь до  $7,1 \pm 3,3$  % и  $2,9 \pm 2,3$  % соответственно (таблица).

При воздействии на участки сосудов опытных крыс ультрависта в концентрациях 200, 100 и 50 мкл/мл агрегация тромбоцитов восстанавливалась до  $6,9 \pm 2,3$  %,  $5,3 \pm 1,8$  % и  $2,8 \pm 1,5$  % соответственно, а в концентрациях 20 и 10 мкл/мл это соединение вообще не влияло на антиагрегационные свойства интимы (таблица).

Предварительное введение крысам рыбьего жира предотвращало снижение противотромботического потенциала сосудов и при действии на них омнипака. Восстановление агрегации тромбоцитов при использовании этого препарата в концентрациях 200 и 100 мкл/мл составило  $1,6 \pm 0,6$  % и  $1,1 \pm 0,3$  % соответственно. При снижении содержания омнипака в инкубационной среде не было отмечено каких-либо нарушений тромборезистентных свойств фрагментов сосудов крыс, получавших рыбий жир (таблица).

Таким образом, можно заключить, что предварительное 5-дневное внутримышечное введение крысам рыбьего жира в дозе 2,5 мл/кг (75 мкл/кг ПНЖК) выражено защищает интиму сосудов от токсического воздействия как ионных, так и неионных РКС. Оценка

результатов выполненной работы позволяет сделать вывод, что урографин, ультравист и омнипак модулируют течение гемостатических реакций. Выраженность и направленность их действия на систему свертывания крови зависит от индивидуальных свойств каждого отдельного препарата. Общим эффектом изученных РКС является снижение тромборезистентных свойств сосудистой стенки. Превентивное введение экспериментальным животным ПНЖК рыбьего жира в значительной степени защищает интиму сосудов от действия урографина, ультрависта и омнипака и сохраняет ее антиагрегационную активность.

## ВЫВОДЫ

1. Омнипак, урографин и ультравист *in vitro* в концентрациях 200, 100, 50, 20 и 10 мкл/мл дозозависимо снижают тромборезистентные свойства сосудистой стенки аорты крыс.

2. Внутримышечное введение крысам n-3 полиненасыщенных жирных кислот (2,5 мл/кг рыбьего жира ежедневно в течение 5 дней) предупреждает потерю сосудистой стенкой антиагрегационных свойств после действия 10 – 200 мкл/мл урографина, ультрависта и омнипака.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. Л. Балуда, К. М. Лакин, Т. И. Лукоянова, В. Н. Романовская, М. В. Балуда, *Фармакол. и токсикол.*, **43**(4), 381 – 383 (1980).
2. Г. Ф. Лакин, *Биометрия*, Высш. школа, Москва (1973).
3. П. В. Сергеев, Н. К. Свиридов, Н. Л. Шимановский, *Контрастные средства*, Медицина, Москва (1993).
4. П. В. Сергеев, Ю. А. Поляев, А. Л. Юдин, Н. Л. Шимановский, *Контрастные средства*, Известия, Москва (2007).
5. P. Aspelin, F. Stacul, H. Thomsen, et al., *J. Eur. Radiol*, **16**, 1041 – 1049 (2006).
6. J. V. R. Born, *Nature*, **194**, 927 – 929 (1962).
7. P. C. Caider, *Proceedings of the Nutrition Society*, **55**, 737 – 774 (1996).
8. J. Dyerberg, *Epidemiology of n-3 fatty acids and disease. In n-3 Fatty Acids and Vascular Disease*, Verona, 1 – 10 (1995).
9. E. B. Schmidt, K. Varming, J. M. Moller, et al., *Scand J. Clin. Invest.*, **56**(1), 87 – 92 (1996).
10. V. K. Shankar, A. Handa, J. Philips-Hunger, et al., *J. Cardiol Vascular and Intervntiolar Radiology*, **29**, 1046 – 1052 (2006).

Поступила 09.06.08

## EFFECT OF X-RAY CONTRAST AGENTS ON THE THROMBORESISTANT PROPERTIES OF VASCULAR WALLS

E. V. Klimanova<sup>1</sup>, V. A. Makarov<sup>1</sup>, G. N. Petrukhina<sup>1</sup>, E. N. Bolotova<sup>2</sup>, and N. L. Shimanovskii<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Hematological Center, Russian Academy of Medical Sciences, Novo-Zykovskii proezd 4a, Moscow, 125167, Russia;

<sup>2</sup> Russian State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117437, Russia

It is established that the x-ray contrast agents urografin, omnipak, and ultravist produce a dose-dependent decrease in the thromboresistant properties of vascular walls in experimental rats. This effect is determined by the individual properties of substances rather than by their belonging to a certain class of ionic or nonionic compounds. Preliminary administration of n3-polyunsaturated fatty acids from fish oil offers a significant protection against the negative action of x-ray contrast agents and retains the antiaggregant activity of the vessel wall intima.

**Key words:** x-ray contrast agents, thrombocyte aggregation, vascular walls