

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

ДЕФОРМАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В ПРИСУТСТВИИ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫХ СРЕДСТВ

О. А. Киселева, А. Н. Усенко, Е. Е. Сидорова, Г. Г. Кармазановский, Н. Л. Шимановский, Н. Н. Фирсов¹

Урографин-76 %, омнипак-300, оптирей-350, ультравист-300, визипак-270 *in vitro* дозозависимо снижают деформационные свойства эритроцитов человека. Степень выраженности негативного эффекта возрастает с увеличением осмотичности препаратов: визипак = ультравист \leq омнипак \leq оптирей $<$ урографин. Эффект рентгеноконтрастных средств на деформацию эритроцитов является обратимым. Эритроциты восстанавливают нормальную деформационную способность после снятия осмотического давления препарата.

Ключевые слова: рентгеноконтрастные средства, деформационные свойства эритроцитов, осмотичность

ВВЕДЕНИЕ

Существует множество патологических состояний организма, при которых требуется проводить рентгенографию, компьютерную томографию для установления правильного диагноза, точной локализации выявленных патологических изменений, контроля эффективности лечения. При обследовании желудочно-кишечного тракта, печени, бронхов, сосудов, естественная контрастность которых недостаточна, используют рентгеноконтрастные средства (РКС). Многие РКС вводят в кровь, поэтому необходимо понимание их взаимодействия с клеточными компонентами крови, в частности, с эритроцитами. Ранее было показано значительное влияние РКС на макро- и микроциркуляцию крови [1, 2, 6 – 8]. Внедрение в клиническую практику новых РКС оставляет актуальными исследования в этой области. Практически не изучено действие современных РКС на деформационные свойства эритроцитов, нарушение которых может приводить к расстройству микроциркуляции [5], недостаточной оксигенации тканей организма и нарушению процессов фильтрации в почках и другим осложнениям [4]. Поэтому целью исследования явилось изучение влияния разных по химическому строению РКС на деформационные свойства эритроцитов человека.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценку деформационных свойств проводили методом дифрактометрии (эктацитометрии) на приборе Рео-АДВ-КФ. Метод основан на дифракции лазерного луча на суспензии эритроцитов в сдвиговом потоке. Полученные дифрактограммы позволяют оценить параметры де-

формируемости эритроцитов: предел текучести клеток (σ_0), отражающий деформационную способность мембран эритроцитов, и индекс деформируемости эритроцита (ID), зависящий, в первую очередь, от эластичности цитоскелета [3].

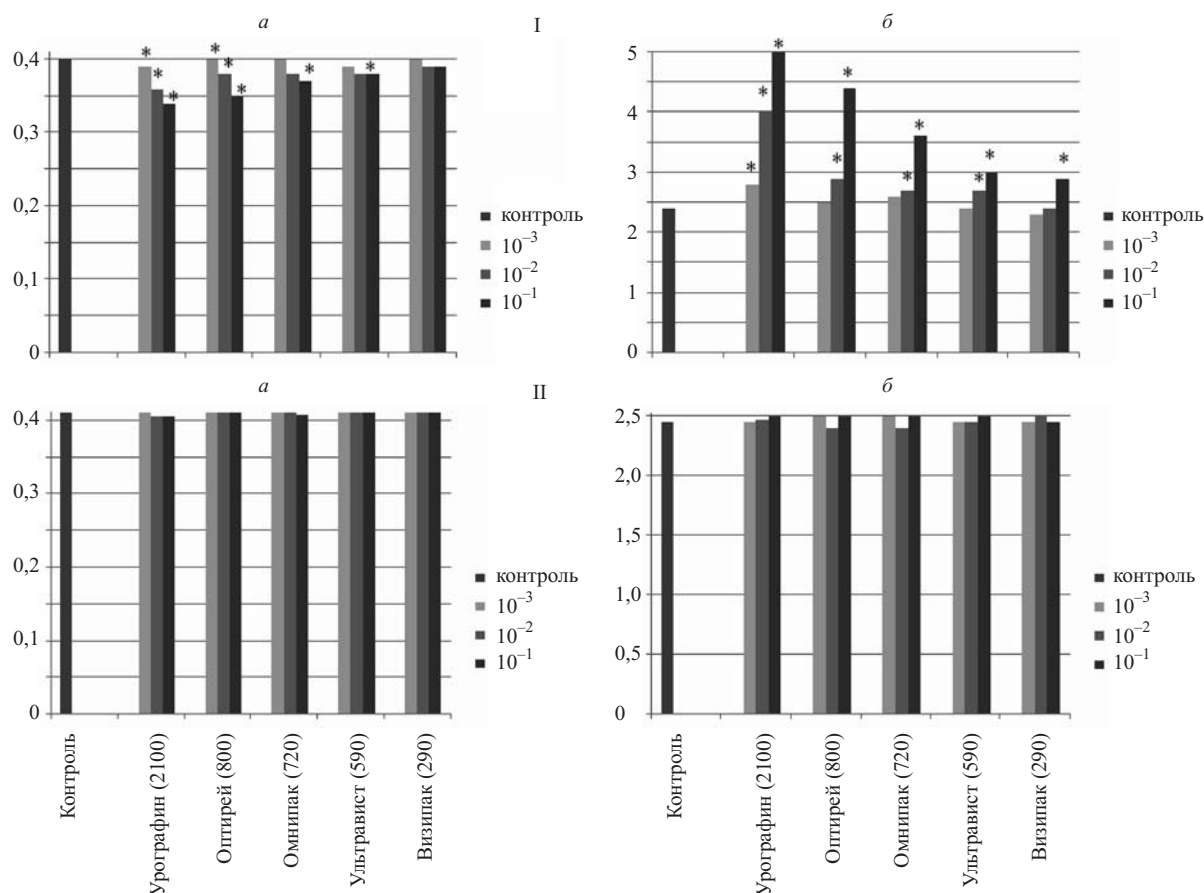
Материалом для исследования послужила кровь 20 человек обоего пола в возрасте 20 – 80 лет. Все доноры — пациенты Института хирургии им. А. В. Вишневского с различными заболеваниями: ИБС, стенокардия, хронический холецистит, хронический панкреатит, сахарный диабет, метастазы печени, прямой кишки, различные опухолевые образования. Кровь забирали с помощью вакуумных систем взятия крови S-Monovette 5,5 мл, стабилизатор — литий-гепарин.

Рабочую суспензию эритроцитов готовили путем разведения до крови в 300 раз суспензионной средой, в качестве которой использовали физиологический раствор, содержащий 0,7 % полиэтиленоксида (5 мД) с вязкостью 10 сП.

Для оценки влияния РКС на деформационные свойства эритроцитов в работе использовано пять препаратов, отличающихся по химической структуре и осмотичности ампульных растворов: ионное контрастное средство — амидотризоат натрия и меглюмина (урографин-76 %, 2100 мосмоль/кг H_2O , “Bayer Schering Pharma”, Германия); неионные РКС — йоверсол (оптирей-350, 800 мосмоль/кг H_2O , “Тайко Хэлскэ”, Канада), йогексол (омнипак-300, 720 мосмоль/кг H_2O , “GE”, США), йопромид (ультравист-300, 590 мосмоль/кг H_2O , “Bayer Schering Pharma”, Германия), йодиксанол (визипак-270, 290 мосмоль/кг H_2O , “GE”, США). Измерение параметров деформируемости проводили при 25° С после предварительной инкубации РКС с суспензией эритроцитов или кровью (10 мин, 25° С). Контрастные средства исследовали в концентрациях 10^{-3} М, 10^{-2} М и 10^{-1} М.

Для установления взаимосвязи деформационной способности эритроцитов с их формой параллельно с изме-

¹ Российский государственный медицинский университет, Москва, 119473, ул. Островитянова, 1.



Индекс деформируемости (а) и предел текучести (б) эритроцитов в присутствии (I) и после инкубации (II) рентгеноконтрастных средств (РКС) в концентрациях 10^{-3} , 10^{-2} и 10^{-1} М.

* — достоверность отличий от контроля при $p_T \leq 0,05$. В скобках — осмотичность растворов РКС в мосмоль/кг · Н₂O.

рением параметров деформируемости проводили морфометрический анализ мазков крови до и после добавления РКС. Определение процентного соотношения морфологических форм эритроцитов проводили с помощью цифрового комплекса микроскопии МЕКОС-Ц1 (ЗАО “Медицинские Компьютерные Системы”, Россия).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента. Если выборки полученных данных не согласовались с нормальным законом распределения, использовали парный Т-критерий Вилкоксона для связанных выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования влияния РКС на деформационные параметры эритроцитов в суспензии клеток представлены на рисунке, I. Из диаграмм видно, что высокоосмотичный (вследствие своей ионной природы) урографин во всех разведениях статистически значимо изменял параметры деформируемости эритроцитов. В группе неионных РКС наибольшим эффектом обладал оптирей, а наименьшим — визипак.

Из представленных результатов следует, что степень выраженности негативных изменений деформационных свойств эритроцитов зависит от осмотичности препаратов, уменьшаясь в ряду урографин-76 % >

оптирей-350 ≥ омнипак-300 ≥ ультравист-300 = визипак-270. При концентрации 10^{-3} М стираются различия в степени выраженности эффектов в группе неионных РКС.

Морфометрический анализ мазков крови после добавления РКС в концентрации 10^{-1} М показал (таблица), что с ростом осмотичности препаратов процент нормальных клеток уменьшается, а количество эхиноцитов возрастает (содержание остальных морфологических форм эритроцитов практически не менялось).

Эти данные согласуются с результатами, представленными на рисунке, I. Действительно, в условиях повышенной осмотичности (т.е. в присутствии РКС), мембрана клетки, покрывавшая ранее больший объем, формирует шипы, выросты, неровности — образуются эхиноциты и сфероэхиноциты. Одновременно происходит увеличение вязкости внутреннего содержимого клетки. Следствием этих событий является уменьшение индекса деформируемости и возрастание предела текучести клеток.

Решая вопрос об обратимости обсуждаемых эффектов, мы провели ряд экспериментов, в которых эритроциты после инкубации с РКС переносили в чистую суспензионную среду, в которой и проводили измере-

Процентное содержание морфологических форм эритроцитов в присутствии РКС в концентрации 10^{-1} М ($M \pm m, n = 20$)

РКС	Эхиноциты, %	Дискоциты, %
Урографин-76 %	78,22 ± 2,13*	17,62 ± 1,57 *
Оптирей-350	26,28 ± 3,34*	69,19 ± 3,11 *
Омнипак-300	17,74 ± 1,74*	78,33 ± 3,45 *
Ультравист-300	10,95 ± 1,92*	84,62 ± 2,34 *
Визипак-270	7,89 ± 2,13*	89,65 ± 2,31
Контроль (без РКС)	4,21 ± 2,67	90,10 ± 1,86

Примечание. * — достоверность отличий от контроля при $p \leq 0,05$.

ния. Результаты этих экспериментов приведены на рисунке, II.

Из рисунка, II видно, что какие-либо достоверно значимые различия в показателях деформируемости клеток в контрольной и опытных выборках отсутствуют. Это свидетельствует об обратимости изменений деформационных параметров эритроцитов, вызванных присутствием РКС.

Проведенные эксперименты моделируют ситуацию, возникающую при проведении различных видов рентгенографии с использованием РКС. При введении РКС в сосудистое русло вязкий концентрированный раствор препарата не сразу размывается кровью. В это время эритроциты контактируют с разными концентрациями РКС, в том числе очень высокими, что приводит к ухудшению их деформационных свойств. Нормализация осмотичности окружающей среды вследствие разбавления раствора РКС кровью ведет к восстановлению показателей деформируемости эритроцитов. Чем быстрее это происходит, тем меньше действие РКС на микроциркуляцию. Следовательно, можно с уверенностью сказать, что низкая осмотичность препаратов — один из критериев их безопасности. В то же время следует отметить, что на деформационные свойства эритроцитов в высокой концентрации (10^{-1} М) влияет также и изоосмолярный препарат визипак-270, а в концентрации 10^{-3} М на них не влия-

ет низкоосмолярный препарат ультравист-300. Поэтому следует предположить, что, кроме осмоляльности, определенную роль в изменении деформационных свойств эритроцитов может играть и непосредственное взаимодействие молекул РКС с мембранами эритроцитов.

ВЫВОДЫ

1. Рентгеноконтрастные средства (РКС) урографин-76 % > оптирей-350 ≥ омнипак-300 ≥ ультравист-300 ≥ визипак-270 концентрационнозависимым образом ухудшают деформационные свойства эритроцитов. Чем больше осмотичность раствора РКС, тем выше степень выраженности развивающегося эффекта.

2. С увеличением осмотичности исследуемых препаратов процентное содержание эхиноцитов в крови растет, а дискоцитов соответственно снижается.

3. Вызываемые изученными РКС эффекты обратимы: эритроциты восстанавливают нормальную форму и деформационную способность после устранения осмотического давления препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. П. В. Сергеев, А. Н. Усенко, Н. Н. Фирсов, Н. Л. Шимановский, *Бюл. экпер. биол.*, № 2, 194 – 196 (1989).
2. А. Н. Усенко, Н. Л. Шимановский, Н. Н. Фирсов, О. Ю. Смирнова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 7, 24 – 27 (1994).
3. Н. Н. Фирсов, А. В. Приезжев, Н. В. Климова, А. Ю. Тюрина, *Инженерно-физический журн.*, 79(1), 1 – 7 (2005).
4. П. В. Сергеев, Ю. А. Поляев, А. Л. Юдин, Н. Л. Шимановский, *Контрастные средства*, Москва (2007).
5. Н. Н. Фирсов, П. Х. Джанашия, *Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию*, Москва (2008).
6. S. Higashi, H. Yasukoshi, K. Ishioka, and H. Toya, *Hippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, 49(6), 748 – 757 (1999).
7. P. Aspelin, F. Stacul, and H. S. Thomsen, *Eur. Radiol.*, 1041 – 1049 (2006).
8. W. H. Reinhart, B. Pleisch, L. G. Harris, and M. Lutolf, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 32(3), 227 – 239 (2005).

Поступила 26.11.08

DEFORMATION PROPERTIES OF HUMAN ERYTHROCYTES IN THE PRESENCE OF X-RAY CONTRAST AGENTS

O. A. Kiseleva, A. N. Usenko, E. E. Sidorova, G. G. Karmazanovskii, N. L. Shimanovskii, and N. N. Firsov

Russian State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 119437, Russia

It is established that the x-ray contrast agents urografin (76 %), omnipaque-300, optiray-350, ultravist-300, and visipaque-270 produce a dose-dependent decrease in the deformation properties of human erythrocytes *in vitro*. The degree of manifestation of this negative influence increases with the osmotic activity of agents in the following order: visipaque = ultravist ≤ omnipaque ≤ optiray < urografin. The effect of these x-ray contrast agents on the deformation of erythrocytes is reversible. Erythrocytes restore their normal deformation properties upon removal of the osmotic pressure induced by the x-ray contrast agents.

Key words: X-ray contrast agents, deformation properties of erythrocytes, osmotic activity