

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

ВЛИЯНИЕ ИОННЫХ И НЕИОННЫХ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫХ СРЕДСТВ НА СВЕРТЫВАЮЩУЮ СИСТЕМУ КРОВИ КРОЛИКОВ *ex vivo*

Е. В. Климанова¹, Г. Н. Петрухина¹, В. А. Макаров¹, П. В. Сергеев², Е. Н. Болотова², Н. Л. Шимановский²

Задачей исследования явилось изучение действия ионных и неионных йодсодержащих рентгеноконтрастных средств (РКС) на систему гемостаза кроликов. В работе использовали ионный урографин-76 %, неионный омнипак-300 и неионный ультравист-300. Кроликам внутривенно вводили исследуемое вещество в средней и большой диагностических дозах, которые составляли 1,5 и 3 мл/кг соответственно. Ионный урографин *ex vivo* в дозе 1,5 мл/кг практически не влиял на систему гемостаза кроликов. Неионные рентгеноконтрастные средства (ультравист и омнипак) в средней диагностической дозе активируют свертывание крови, причем омнипак значительно сильнее, чем ультравист. С увеличением дозы как ионных, так и неионных РКС воздействие на гемостаз становится более значительным.

Ключевые слова: рентгеноконтрастные средства, гемостаз

ВВЕДЕНИЕ

В клинической практике для диагностики многих заболеваний широко используют рентгенологические методы исследования, эффективность которых значительно выше при применении йодсодержащих рентгеноконтрастных средств (РКС). На данный момент разработано большое количество йодсодержащих РКС, которые по химической природе делятся на ионные и неионные.

Для клинической практики важно, чтобы используемые РКС были безопасны и их воздействие на организм и ткани, в том числе на свертывающую систему крови было минимальным. Хотя влияние РКС на гемостаз отмечается достаточно часто, в настоящее время нет единого мнения ни о направленности действия РКС на тромбогенез, ни о механизме развития таких осложнений.

Не вызывает сомнения, что существенный вклад в развитие неблагоприятных эффектов после введения рентгеноконтрастных соединений обеспечивается воздействием этих веществ на интиму сосудов. В ряде работ проведена и косвенная оценка влияния РКС на функциональные свойства сосудистой стенки *in vivo*. Показано, что ионный йоксагат и неионный йопамидол практически в равной степени увеличивают плазменную концентрацию фактора Виллебранда [8], что может свидетельствовать об активирующем действии этих препаратов на эндотелиальные клетки [11]. С другой стороны, ионный урографин на уровень факто-

ра Виллебранда не влиял. При оценке изменения содержания в крови тромбомодулина и ингибитора активатора плазминогена тканевого типа при введении ионных йоксагата и урографина, а также неионного йопамидола были получены данные, сопоставимые по направленности и выраженности эффекта с результатами, характеризующими действие этих веществ на концентрацию фактора Виллебранда [8].

В нескольких работах показано влияние РКС на фибринолиз. Так, эти соединения в условиях *in vitro* полностью ингибировали активность активатора плазминогена тканевого типа, урокиназы и стрептокиназы [7]. Эти результаты подтверждаются и данными клинических исследований, показавших снижение активности фибринолитической системы при использовании неионного йопромида у онкологических больных и пациентов с атеросклеротическими изменениями сосудов после проведения рентгенографии [6].

Таким образом, как ионные, так и неионные рентгеноконтрастные средства обладают заметным влиянием на систему гемостаза, однако не вызывает сомнения, что корректная оценка этого эффекта РКС требует серьезных дополнительных исследований.

Целью данной работы явилось изучение влияния ионных (урографин) и неионных (ультравист и омнипак) рентгеноконтрастных средств на интегральные характеристики функциональной активности системы свертывания крови кроликов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы следующие рентгеноконтрастные средства: неионный ультравист-300 (“Schering”, Германия), неионный омнипак-300 (“Nicomed”,

¹ Гематологический научный центр РАМН, Москва, 125167, Новозыковский пр., 4а.

² Российский государственный медицинский университет, Москва, 119437, ул. Островитянова, 1.

Таблица 1. Влияние болюсного внутривенного введения физиологического раствора (3 мл/кг) на некоторые показатели свертывающей системы крови кроликов ($M \pm m$)

Параметр	До введения (контроль)	После введения			
		20 мин	1 ч	2 ч	24 ч
Агрегация тромбоцитов (АДФ; A_{\max} ; %)	28,2 ± 1,3	27,8 ± 2,1	29,4 ± 1,9	28,9 ± 2,5	24,9 ± 2,4
АЧТВ, с	12,6 ± 1,4	12,6 ± 2,2	13,4 ± 1,4	12,8 ± 1,6	14,2 ± 1,6
Протромбиновое время, с	11,7 ± 0,7	10,8 ± 0,2	10,9 ± 0,7	12,1 ± 0,9	11,6 ± 1,1
Количество фибриногена, г/л	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,8 ± 0,3	3,6 ± 1,2	4,7 ± 0,2*
ПДФ, мкг/мл	0	0	0	0	0

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * — различия статистически достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$).

Норвегия), ионный урографин-76 % (“Schering”, Германия). Ультравист-300 является водным раствором, содержащим йопромид (N,N-ди[2,3-триод-5-метокс-мацетиламино-N-метиллизотофаламид]) в количестве 0,623 г в 1 мл, что соответствует 300 мг йода. Урографин-76 % представляет водный раствор, содержащий смесь натриевой и метилглюкаминовой солей 3,5-диацетиламино-2,4,6-триодбензойной кислоты (в 1 мл раствора присутствует 0,1 г натриевой и 0,66 г метилглюкаминовой солей, что соответствует 370 мг йода). Омнипак-300 содержит водный раствор йогексола, который по химическому строению является N,N-бис(2,3-дигидроксипропил)-5-[N-(2,3-дигидрок-

сипропил)ацетамид]2,4,6-триодизоталамидом. В 1 мл омнипака-300 присутствует 0,647 мг этого вещества, то есть 300 мг йода. При проведении экспериментов все РКС дозировали в микролитрах или миллилитрах готовых лекарственных форм.

В эксперименте по изучению влияния рентгеноконтрастных средств на некоторые параметры гемостаза *ex vivo* использовали кроликов ($n = 30$) обоего пола массой 3 – 4,5 кг. Исследуемые РКС в экспериментальных дозах вводили животным болюсно внутривенно. Для снижения вязкости растворов перед инфузией все препараты разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1. Для измерения коагулологических

Таблица 2. Влияние болюсного внутривенного введения урографина, омнипака и ультрависта (1,5 мл/кг) на некоторые показатели свертывающей системы крови кроликов ($M \pm m$)

Параметр	Время после введения	Урографин	Омнипак	Ультравист
Агрегация тромбоцитов, %	До введения	30,7 ± 1,9	39,9 ± 4,0	49,5 ± 3,4
	Через 20 мин	32,9 ± 1,9	37,1 ± 1,2	44,3 ± 1,2
	Через 1 ч	28,7 ± 2,1	35,4 ± 1,2	43,9 ± 1,5
	Через 2 ч	30,0 ± 1,2	35,4 ± 1,8	44,1 ± 1,7
	Через 24 ч	27,5 ± 1,8	43,1 ± 3,3	55,8 ± 1,6
АЧТВ, с	До введения	12,9 ± 0,7	16,2 ± 0,5	14,7 ± 0,2
	Через 20 мин	15,6 ± 1,3	16,7 ± 0,6	14,2 ± 0,2
	Через 1 ч	14,3 ± 0,3	15,6 ± 1,7	14,1 ± 0,2
	Через 2 ч	13,6 ± 0,6	18,2 ± 1,1	14,1 ± 0,2
	Через 24 ч	15,9 ± 1,3	15,4 ± 0,3	13,0 ± 0,3*
Протромбиновое время, с	До введения	10,5 ± 0,6	10,9 ± 0,4	9,6 ± 0,3
	Через 20 мин	11,7 ± 0,7	10,7 ± 0,5	9,8 ± 0,4
	Через 1 ч	13,4 ± 1,3	9,3 ± 0,2*	9,3 ± 0,4
	Через 2 ч	10,4 ± 0,6	9,5 ± 0,1*	8,9 ± 0,5
	Через 24 ч	11,3 ± 1,3	8,4 ± 0,2*	7,3 ± 0,2*
Количество фибриногена, г/л	До введения	2,7 ± 0,2	5,8 ± 0,2	4,4 ± 0,2
	Через 20 мин	2,5 ± 0,1	4,8 ± 0,5	3,6 ± 0,5
	Через 1 ч	2,5 ± 0,2	4,7 ± 0,4	4,3 ± 0,7
	Через 2 ч	2,5 ± 0,2	4,6 ± 0,5	3,6 ± 0,4
	Через 24 ч	3,6 ± 0,1*	4,3 ± 0,5*	5,5 ± 0,5
ПДФ, мкг/мл	До введения	0	3,6 ± 2,2	5,4 ± 0,2
	Через 20 мин	0	10,2 ± 5,5	9,6 ± 5,9
	Через 1 ч	0	10,2 ± 3,8*	6,3 ± 4,6
	Через 2 ч	0	5,7 ± 1,8	6,6 ± 4,5
	Через 24 ч	0	10,9 ± 0,4*	7,8 ± 4,6

параметров кровь брали из краевой вены уха кролика методом “свободно падающей капли” до введения препарата, через 20 мин, 1, 2 и 24 часа после введения. В качестве стабилизатора использовали 3,8 % раствор цитрата натрия. Для приготовления богатой и бедной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин, после чего верхний слой плазмы отбирали и переносили в другую пробирку. Оставшийся осадок повторно центрифугировали в течение 20 мин при 3000 об/мин для получения бедной тромбоцитами плазмы.

Агрегацию тромбоцитов кроликов *ex vivo* изучали методом светорассеивания, предложенным G. G. V. Born [3, 4], на агрегометре фирмы “Chrono-log Corporation” (США). С этой целью в кювету агрегометра, содержащую мешалку, помещали 450 мкл обогащенной тромбоцитами плазмы, используя в качестве оптического контроля такой же объем бедной тромбоцитами плазмы. О степени агрегации судили по максимальной величине возрастания светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы после окончания реакции (A_{\max}) по сравнению с исходной величиной. В качестве проагреганта в работе использовали АДФ

(“Boehringer Mannheim”, Австрия) в конечной концентрации 10^{-5} М.

Для оценки активированного частичного тромбопластинового времени использовали АЧТВ-реагент-СФЕ (НПО “Ренам”, Россия). Определение протромбинового времени проводили по методу A. J. Quick [12], с использованием стандартного набора реактивов Calcium-Tromboplastin (“Behring”, Германия). Количество фибриногена определяли методом, предложенным A. Clauss [5]. В работе использовали набор реагентов Тех-Фибриноген-тест фирмы “Технология-стандарт” (Россия). Для определения концентрации продуктов деградации фибриногена в плазме кроликов использовали стандартный набор реактивов Fibro-Tec (“Behring”, Германия) [9]. Все измерения проводили на бедной тромбоцитами плазме с помощью коагулометра Fibrintimer (“Behring”, Германия).

При изучении влияния рентгеноконтрастных средств на параметры гемостаза оценку достоверности различий между контролем и опытом проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,05$ [1, 2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку перед введением РКС в сосудистое русло препарат разводили в сравнительно большом объеме физиологического раствора, мы сочли необходимым изучить влияние 0,9 % NaCl в опытных дозах (то есть 3 мл/кг массы животного) на свертывающую систему крови кролика. Полученные данные, представленные в табл. 1, позволили заключить, что болюсное внутривенное введение физиологического раствора в исследуемой дозе существенно не влияло на основные показатели, характеризующие функциональное состояние гемостаза. Некоторое увеличение содержания фибриногена в плазме через 24 ч после введения 0,9 % NaCl могло быть проявлением компенсаторных реакций в ответ на острое кратковременное увеличение объема циркулирующей крови.

На первом этапе работы было проведено сравнительное исследование влияния ультрависта, омнипака и урографина на свертывающую систему крови кроликов в средней диагностической дозе 1,5 мл/кг массы животного. Полученные результаты (табл. 2) показали, что ионный урографин в данной дозе в течение всего периода исследования не влиял на выраженность межтромбоцитарного взаимодействия, величину активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), которое интегрально характеризует процесс свертывания крови по внешнему пути, и протромбинового времени, дающего общую оценку активности внешнего пути гемостаза. Не было отмечено и изменения содержания продуктов деградации фибрина и фибриногена. В то же время, в данной постановке опыта урографин вызывал некоторое увеличение со-

Таблица 3. Влияние болюсного внутривенного введения урографина и ультрависта (3 мл/кг) на некоторые показатели свертывающей системы крови кроликов ($M \pm m$)

Параметр	Время после введения	Урографин	Ультравист
Агрегация тромбоцитов %	До введения	31,1 ± 2,1	35,5 ± 1,3
	Через 20 мин	14,4 ± 1,5*	34,8 ± 2,7
	Через 1 ч	11,6 ± 3,1*	28,3 ± 1,4*
	Через 2 ч	19,5 ± 2,8*	29,3 ± 1,6*
	Через 24 ч	19,6 ± 2,0*	26,0 ± 1,3*
АЧТВ, с	До введения	21,8 ± 1,0	20,4 ± 0,9
	Через 20 мин	23,4 ± 0,9	20,9 ± 0,6
	Через 1 ч	21,0 ± 1,4	21,2 ± 0,9
	Через 2 ч	18,2 ± 0,7*	20,7 ± 1,5
	Через 24 ч	16,9 ± 0,5*	22,3 ± 0,9
Протромбиновое время, с	До введения	10,1 ± 0,1	9,4 ± 0,2
	Через 20 мин	9,8 ± 0,2*	10,9 ± 1,2
	Через 1 ч	9,3 ± 0,3*	9,2 ± 0,2
	Через 2 ч	8,9 ± 0,2*	9,3 ± 0,2
	Через 24 ч	7,6 ± 0,3*	8,2 ± 0,3*
Количество фибриногена, г/л	До введения	3,6 ± 0,3	2,4 ± 0,3
	Через 20 мин	3,4 ± 0,2	2,2 ± 0,3
	Через 1 ч	3,3 ± 0,2	2,0 ± 0,3
	Через 2 ч	3,4 ± 0,4	1,9 ± 0,2
	Через 24 ч	3,7 ± 0,1	4,5 ± 0,1*
ПДФ, мкг/мл	До введения	0	0
	Через 20 мин	0	0
	Через 1 ч	0	0
	Через 2 ч	0	0
	Через 24 ч	0	0

держания фибриногена в крови с $2,7 \pm 0,2$ г/л до $3,6 \pm 0,1$ г/л к 24 часу наблюдения. Так как подобные изменения были отмечены и при введении физиологического раствора, не исключено, что их причиной могла быть компенсаторная реакция системы свертывания крови на острую дилуцию.

Введение кроликам ультрависта привело к достоверному укорочению АЧТВ и протромбинового времени через 24 ч после введения препарата при отсутствии заметных изменений со стороны других изучаемых параметров гемостаза (табл. 2).

При введении омнипака наблюдалось укорочение протромбинового времени через 1, 2 и 24 ч после введения, снижение концентрации фибриногена спустя сутки, кроме того, значительное повышение уровня продуктов деградации фибриногена (ПДФ).

Наши данные частично совпадают с результатами С. Izci и соавт., которые исследовали влияние урографина-76 % и омнипака-370 в дозе 2,0 мл/кг на свертывающую систему крови собак [13]. Авторы показали, что в данной концентрации урографин не влиял на АЧТВ, протромбиновое время и уровень фибриногена в течение 3 мин — 24 ч. А омнипак не изменял концентрацию фибриногена и АЧТВ на протяжении всего времени исследования (3 мин — 24 ч) и практически не оказывал влияния на протромбиновое время. Однако количество тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов в крови у собак в обоих случаях спустя 3 мин — 3 ч снижалось, а через сутки приходило в норму. Данные изменения можно объяснить разведением крови большим количеством введенного вещества [13].

Другими авторами отмечено, что при проведении клинических исследований у пациентов спустя 5 – 30 мин после введения ультрависта в дозе 0,5 – 1 мл/кг наблюдалось незначительное укорочение АЧТВ, удлинение протромбинового времени, а уровень фибриногена оставался практически без изменений [10].

Таким образом, при оценке влияния данных РКС на свертывающую систему крови кроликов в средней диагностической дозе можно заключить, что ионный урографин не вызывал заметных изменений в системе гемостаза, однако, неионные препараты обладали значительным активирующим действием. Кроме того, омнипак сильнее, чем ультравист, активировал свертывание крови по внешнему пути. В то же время препарат способствовал снижению уровня фибриногена, что, возможно (учитывая повышение содержания ПДФ), могло быть результатом более выраженного повышения коагулологического потенциала крови и развития активного потребления этого белка в процессе тромбогенеза.

На следующем этапе работы было проведено дозозависимое изучение влияния урографина и ультрависта на систему свертывания крови кроликов. Исследуемые препараты вводили в дозе 3 мл/кг массы живот-

ного, что соответствует большой дозе, используемой при проведении диагностических процедур.

При оценке полученных данных (табл. 3) выявлено, что введение кроликам урографина (3 мл/кг) вызывало времязависимое укорочение протромбинового времени, причем уже через 1 ч после начала эксперимента изменения величины данного показателя были достоверными, а через сутки составили примерно 25 % от исходной величины. Через 2 ч после введения урографина отмечено также и укорочение АЧТВ; к 24 часу опыта выраженность этих изменений существенно возросла. Агрегация тромбоцитов была снижена уже через 20 мин после введения препарата и не возвращалась к исходному уровню до конца эксперимента. В то же время не было обнаружено достоверного влияния урографина на уровень фибриногена и количество ПДФ в плазме.

Таким образом, можно заключить, что урографин в большой диагностической дозе вызывал активацию гемостаза (в отличие от дозы 1,5 мл/кг), причем эта реакция не являлась кратковременной и сохранялась по крайней мере в течение 24 часов после введения препарата.

Увеличение дозы ультрависта с 1,5 мл/кг до 3 мл/кг массы животного также сопровождалось активацией свертывания крови по внешнему пути (о чем свидетельствовало снижение протромбинового времени с $9,4 \pm 0,2$ до $8,2 \pm 0,3$ с), но изменения АЧТВ отмечено не было. Кроме того, введение высоких доз ультрависта вызывало снижение агрегации тромбоцитов и повышение содержания фибриногена в крови (табл. 3).

Результаты исследования позволили заключить, что урографин, ультравист и омнипак обладают заметным влиянием на гемостаз. При определенных условиях (например, при тромбофилиях) этот эффект может служить фактором провокации тромбогенеза. Сравнение влияния на систему гемостаза ионных и неионных РКС показало, что выраженность побочных явлений, развивающихся под действием этих средств, зависит не столько от группы, к которой они принадлежат, сколько от индивидуальных особенностей препарата и его дозы.

ВЫВОДЫ

1. Урографин, практически не влияя на гемостаз кроликов при внутривенном болюсном введении в дозе 1,5 мл/кг массы животного, оказывает активирующее действие на систему гемостаза при введении в большой диагностической дозе (3 мл/кг).

2. Неионные рентгеноконтрастные препараты ультравист и омнипак при внутривенном болюсном введении активируют свертывание крови в средней диагностической дозе (1,5 мл/кг), причем омнипак оказывает более выраженное действие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Ф. Лакин, *Биометрия*, Высш. шк. (1990).
2. *Руководство по доклиническому (экспериментальному) изучению новых фармакологических веществ*, В. П. Фисенко, Е. В. Арзамасцев, Э. А. Бабаян (ред.), Москва (2000).
3. J. V. R. Born, *J. Physiol.*, **162**, 487 – 511 (1962).
4. J. V. R. Born, *Nature*, **194**, 927 – 929 (1962).
5. A. Clauss, *Acta Haematol.*, **17**(4), 237 – 241 (1957).
6. D'Anglemont De Tassigny, C. Corot., *Investigative Radiology*, **36**(5), 276 – 282 (2001).
7. P. M. Farrrehi, Y. Zhu, and W. P. Fay, *J. Thromb. Thrombolysis*, **12**, 273 – 281 (2001).
8. C. Fauser, E. V. Ullisch, W. Kubler, and C. Haller, *Eur. J. Med. Res.*, **6**(11), 465 – 472 (2001).
9. J. Hawiger, et al., *J. Lab. Clin. Med.*, **75**, 93 – 108 (1970).
10. J. J. M. L. Hoffmann, A. V. Tielbeck, and W. Krause, *Br. J. Radiol.*, **73**(867), 248 – 255 (2000).
11. J. D. Pearson, *Br. Med. Bull.*, **50**(4), 776 – 788 (1994).
12. A. J. J. Quick, *J. Biol. Chem.*, **109**, LXXIII (1935).
13. C. Izci, Z. Ogurtan, and C. Ceylan, *J. Vet. Med.*, **50**, 307 – 312 (2003).

Поступила 18.03.05.

EFFECTS OF IONIC AND NON-IONIC CONTRAST MEDIA UPON EX VIVO HEMOSTASIS IN RABBITS

E. V. Klimanova¹, G. N. Petrukhina¹, V. A. Makarov¹, P. V. Sergeev²,
E. N. Bolotova², and N. L. Shimanovskii²

¹ Scientific Hematological Center, Russian Academy of Medical Sciences, Novo-Zykovskii proezd 4a, Moscow, 125167 Russia;

² Russian State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117437 Russia

The influence of ionic and non-ionic contrast media on the ex vivo hemostasis in rabbits was studied for ionic urografin (76 %), non-ionic ultravist-300, and non-ionic omnipaque-300 intravenously injected in medium and high doses (1.5 ml/kg and 3.0 ml/kg, respectively). Ionic urografin (1.5 ml/kg) almost did not influence the level of hemostasis ex vivo. Non-ionic contrast media (ultravist and omnipaque) in the medium diagnostic dose (1.5 ml/kg) activated the hemostasis, the effect being much more pronounced in the case of omnipaque. Dose-dependent action was observed for both ionic and non-ionic contrast media.