

АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КРОВИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ КОНТРАСТНЫХ СРЕДСТВ

Ю. К. Наполов, Н. Л. Шимановский¹

Доказано активирующее действие рентгеноконтрастных средств (РКС) (йодамид \geq билигност \geq триомбрат $>$ перитраст $>$ мелитраст $>$ омнипак $>$ гексабрикс) на лактатдегидрогеназу (ЛДГ) крови крыс в дозе 2 г йода/кг. В дозе 0,5 г йода/кг, концентрациях 0,03 – 30 мг йода/мл РКС и гадолинийсодержащие контрастные средства в дозе 0,1 мМ/кг и концентрациях 0,2 ÷ 1 мг гадолиния/мл (билигност \geq йодамид \geq триомбрат \geq перитраст $>$ гексабрикс $>$ омнипак = мелитраст \geq ультравист = магневист = дипентаст) ингибируют фермент. Исследован механизм действия контрастных средств на ЛДГ, доказана связь изменения активности ЛДГ с показателями ЛД₅₀ РКС, определены группы риска с точки зрения развития побочных реакций на внутривенное введение РКС.

Ключевые слова: рентгеноконтрастные и контрастные магнитно-резонансные препараты, лактатдегидрогеназа сыворотки крови

ВВЕДЕНИЕ

Повышение в крови активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) является отражением патологических изменений в организме и наблюдается при многих заболеваниях [4]. Контрастная диагностика проводится у больных с различной патологией [9, 14], поэтому следует представлять влияние контрастных средств на активность этого фермента. При этом известно, что контрастные средства при внутривенном введении индуцируют анафилактикоидные реакции [8, 14, 18, 22], что связано с изменением биохимических параметров крови.

При проведении диагностических исследований различных систем организма используются органические йодсодержащие рентгеноконтрастные средства (РКС). В последнее десятилетие спектр контрастных исследований в клинике расширился за счет применения магнитно-резонансных контрастных средств (МКС) [8, 14].

Целью работы явилось исследование влияния РКС и МКС на ЛДГ в крови крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы 486 крыс линии Вистар обоего пола массой 150 – 200 г, содержащиеся на стандартной диете вивария. Животные статистически случайным образом были разделены на контрольные и опытные группы ($n \geq 9$).

В экспериментах *in vivo* животным опытных групп внутривенно вводили подогретые до 37°C РКС и МКС. Контрольные крысы получали изотонический физиологический раствор при тех же условиях. Скорость введения — 0,1 мл/с. Через 15 мин крыс забивали посредством кровопускания из сонной артерии под легким эфирным наркозом и после отстаивания крови (4°C) сыворотку получали центрифугированием (400 г, 8 мин, 4°C). В экспериментах *in vitro* сыворотку крови инкубировали с РКС и МКС при 37°C в течение 20 мин.

Дозы и концентрации препаратов соответствуют применяемым в клинике: для РКС — 0,5 ÷ 2 г йода/кг и 0,03 ÷ 30 мг йода/мл, для МКС — 0,1 ÷ 0,3 мМ/кг и 10^{-2} ÷ 10^{-4} М (0,2 ÷ 1 мг гадолиния/мл) соответственно.

Исследованные препараты: мономерные ионные РКС — 80% йодамид-380, 76% триомбрат-370 (“Фармак”, Украина), 80% перитраст-400 (“Dr. Köhler Chemic”, Германия), димерные ионные РКС — 50% билигност-300 (“Фармак”, Украина), гексабрикс-320 (“Buk Gulden”, Германия), мономерные неионные РКС — мелитраст-300 (“Dr. Köhler Chemic”, Германия), омнипак-300 (“Nycomed”, Норвегия), ультравист-370 (“Schering”, Германия), МКС — магневист (“Schering”, Германия), дипентаст (опытный образец, Россия). Химическая структура и особенности физико-химических свойств препаратов представлены в монографиях [12, 24].

ЛДГ (L-лактат: NAD⁺ — оксидоредуктаза, ЕС 1.1.1.27) — цинкзависимый фермент, окисляющий оксимонокарбоновые кислоты [4]. Об активности ЛДГ в сыворотке крови судили, используя спектрофотометрический анализ, по величине скорости превращения пирувата в лактат, сопровождающегося окислением NAD · Н до NAD⁺. Применяли стандартный набор реактивов LACTATE DEHYDROGENASE (LDH), Ultraviolet Determination, Technical bulletin No. 340-UV (“Sigma Chem. Co.”). Полученные значения рассчитаны как активность ЛДГ (ЕД) в 1 мл сыворотки крови опытных и контрольных крыс для каждого животного до и после воздействия РКС/МКС, физиологического раствора.

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали параметрический критерий F (Фишера), непараметрические критерии инверсий U (Вальденстрёма – Манна – Уитни) и серий r (Вальда – Вольфовица), параметрические корреляционный анализ, линейный регрессионный анализ и метод наименьших квадратов, непараметрический табличный метод сопряженных признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты определения активности ЛДГ после инкубации сыворотки крови с РКС и МКС. РКС во всех исследованных концентрациях 0,03 ÷ 30 мг йода/мл, а также магневист и дипентаст в аналогичных диагностических дозах, применяемых в клинике, 0,2 ÷ 1,0 мг гадолиния/мл, снижают величины \bar{x} активности ЛДГ во всех опытных группах относительно \bar{x} контрольных животных ($10,61$ Е/мл/ 10^2).

¹ Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии (зав. — акад. РАМН П. В. Сергеев) Российского государственного медицинского университета, Москва, 117437, ул. Островитянова, 1.

После воздействия на кровь йодамида и билигноста активность ЛДГ составила $5,61 \div 7,09$ Е/мл/10², триомбраста и перитраста — $6,18 \div 7,65$ Е/мл/10², гексабрикса — $6,84 \div 8,03$ Е/мл/10², ультрависта, мелитра-

ста, омнипака, магневиста, дипентаста — $7,34 \div 8,95$ Е/мл/10².

По силе ингибирования активности ЛДГ в крови крыс при концентрации РКС 0,03 и 0,3 мг йода/мл препараты можно расположить в ряд: билигност > йодамид \geq триомбраст > перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст \geq ультравист ($p(\text{Ho})_v < 0,05$). Эффект магневиста и дипентаста в концентрациях 0,2 и 0,4 мг гадолиния/мл был сопоставим ($p(\text{Ho})_v < 0,05$) с неионными мономерными РКС (омнипак, мелитраст, ультравист). При максимальных концентрациях РКС 3 и 30 мг йода/мл и МКС 0,6 и 1 мг гадолиния/мл, соответствующих высшим диагностическим дозам, используемым в клинике, способность ингибировать активность ЛДГ уменьшается в рядах: билигност > йодамид = триомбраст = перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст = ультравист = магневист = дипентаст и билигност = йодамид > триомбраст \geq перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст > ультравист = магневист = дипентаст, соответственно ($p(\text{Ho})_v = 0,01$ для обоих рядов).

Согласно рассчитанной зависимости биологического эффекта от типа препарата, неионные РКС (ультравист, омнипак, мелитраст) слабее влияют на активность ЛДГ, чем ионные препараты — билигност, йодамид, триомбраст, перитраст, гексабрикс ($p(\text{Ho})_v = 0,01$). Известно, что при введении диатризоата и йоксаглата выделение с мочой ЛДГ у кроликов и человека выражено в большей степени, чем при введении неионных РКС. Ранее нами установлено, что неионные РКС по сравнению с ионными слабее высвобождают гистамин из клеточного депо, меньше активируют систему комплемента по альтернативному пути, слабее повышают концентрацию и снижают степень дисперсности циркулирующих иммунных комплексов РКС [11, 12]. Согласно данным [22], процент появления побочных реакций при использовании неионных РКС ниже, чем при применении ионных препаратов. Преимущество неионных РКС проявляется при проведении контрастных исследований у ослабленных больных в преклонном возрасте, при диабете, сердечно-сосудистой недостаточности, бронхиальной астме, других аллергических заболеваниях, в детской практике [14].

Низкоосмотические РКС (ультравист, омнипак, мелитраст, гексабрикс) слабее изменяют ферментативную активность ЛДГ ($p(\text{Ho})_v < 0,01$) в сравнении с высокоосмотическими препаратами (билигност, йодамид, триомбраст, перитраст).

Таким образом, увеличение ионногенности и осмотичности препаратов повышает ингибирование активности ЛДГ в крови.

Гадолинийсодержащие МКС — магневист и дипентаст по величине ингибирования активности ЛДГ не превосходили неионные мономерные препараты омнипак, мелитраст, ультравист, их активность была сопоставима. Согласно нашим, ранее полученным, данным, магневист в меньшей степени, чем ионные РКС,

Таблица 1. Активность ЛДГ в сыворотке крови крыс после инкубации крови с контрастными средствами ($M \pm m$)

Препарат	Концентрация	Активность ЛДГ (Е/мл/10 ²)**
Йодамид, мг йода/мл	0,03	$7,09 \pm 0,08^*$
	0,3	$6,95 \pm 0,12^*$
	3,0	$6,21 \pm 0,09^*$
	30,0	$5,68 \pm 0,08^*$
Триомбраст, мг йода/мл	0,03	$6,88 \pm 0,06^*$
	0,3	$7,05 \pm 0,08^*$
	3,0	$6,18 \pm 0,08^*$
	30,0	$6,32 \pm 0,05^*$
Перитраст, мг йода/мл	0,03	$7,43 \pm 0,11^*$
	0,3	$7,65 \pm 0,08^*$
	3,0	$6,24 \pm 0,07^*$
	30,0	$6,18 \pm 0,08^*$
Билигност, мг йода/мл	0,03	$6,64 \pm 0,08^*$
	0,3	$6,45 \pm 0,04^*$
	3,0	$5,79 \pm 0,05^*$
	30,0	$5,61 \pm 0,08^*$
Гексабрикс, мг йода/мл	0,03	$7,84 \pm 0,08^*$
	0,3	$8,03 \pm 0,07^*$
	3,0	$6,84 \pm 0,07^*$
	30,0	$6,93 \pm 0,10^*$
Мелитраст, мг йода/мл	0,03	$8,82 \pm 0,11^*$
	0,3	$8,73 \pm 0,14^*$
	3,0	$7,53 \pm 0,09^*$
	30,0	$7,34 \pm 0,11^*$
Омнипак, мг йода/мл	0,03	$8,90 \pm 0,09^*$
	0,3	$8,87 \pm 0,06^*$
	3,0	$7,55 \pm 0,12^*$
	30,0	$7,49 \pm 0,07^*$
Ультравист, мг йода/мл	0,03	$8,79 \pm 0,08^*$
	0,3	$8,95 \pm 0,05^*$
	3,0	$7,58 \pm 0,07^*$
	30,0	$7,54 \pm 0,05^*$
Магневист, мг гадолиния/мл	0,2	$8,84 \pm 0,09^*$
	0,4	$8,91 \pm 0,04^*$
	0,6	$7,66 \pm 0,05^*$
	1,0	$7,44 \pm 0,07^*$
Дипентаст, мг гадолиния/мл	0,2	$8,79 \pm 0,08^*$
	0,4	$8,64 \pm 0,08^*$
	0,6	$7,60 \pm 0,10^*$
	1,0	$7,47 \pm 0,02^*$

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — значения статистически значимо отличаются от контроля с $p(\text{Ho})_v \leq 0,025$, где Ho — гипотеза о существовании различий в распределениях значений активности ЛДГ опытной и контрольных групп животных. ** — среднее значение активности ЛДГ в сыворотке крови крыс контрольной группы составило $10,61 \pm 0,94$ Е/мл/10².

активировал хемилюминесценцию резидентных макрофагов [7]. МКС слабее РКС понижают концентрацию свободных ионов кальция в крови [6], повышают количество интерлейкина-2, простациклина в плазме крови, снижают фагоцитарный индекс нейтрофильных лейкоцитов, МКС, в отличие от РКС, не понижают в плазме количество тромбксана A_2 , внутриклеточное количество гистамина, не активируют спонтанную пролиферацию мононуклеарных клеток крови [15].

В табл. 2 представлены результаты влияния РКС и МКС внутривенного введения на ферментативную активность ЛДГ в сыворотке при введении препаратов в вену. В дозе 0,5 г йода/кг йодамид, триомбрат и билигност понижали активность ЛДГ с $9,57 \text{ Е/мл}/10^2$ до 4,73, 4,84 и 4,18 $\text{Е/мл}/10^2$ соответственно. Активность ЛДГ после введения перитраста в этой же дозе составила $5,27 \text{ Е/мл}/10^2$. Аналогичный показатель для гексабрикса и омнипака — 6,32 и 6,9 $\text{Е/мл}/10^2$. После введения мелитраста и ультрависта в дозе 0,5 г йода/кг, а также магневиста и дипентаста в дозе 0,1 мМ/кг активность ЛДГ в крови была в пределах $7,19 \div 7,27 \text{ Е/мл}/10^2$. При анализе зависимости биологического эффекта от типа препарата получена следующая закономерность — величина ингибирующего действия на активность ЛДГ в крови крыс через 10 мин после введения РКС в дозе 0,5 г йода/кг с достоверностью $p(\text{Ho})_v = 0,005$ уменьшается в ряду билигност > йодамид \geq триомбрат > перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст \geq ультравист. Магневист и дипентаст в дозе 0,1 мМ/кг, аналогичной в диагностическом применении дозе РКС 0,5 г йода/кг, ингибировали активность ЛДГ в равной степени с неионными мономерными РКС — омнипаком, мелитрастом, ультравистом ($p(\text{Ho})_v > 0,05$).

При использовании РКС в дозе 1 г йода/кг изменение активности ЛДГ произошло только после введения билигноста — показатель активности фермента имел значение $6,51 \text{ Е/мл}/10^2$. Ни у одной из крыс опытных групп, которым вводили РКС — йодамид, триомбрат, перитраст, гексабрикс, мелитраст, омнипак, ультравист в дозе 1 г йода/кг в сыворотке крови не произошло изменение активности ЛДГ — средние значения \bar{x} показателей активности фермента в этих группах составили $9,3 \div 10,83 \text{ Е/мл}/10^2$ и не отличались статистически достоверно от контроля ($9,57 \text{ Е/мл}/10^2$). В дозе 0,2 мМ/кг, эквивалентной количеству применяемого контрастирующего вещества в дозе РКС 1 г йода/кг, магневист и дипентаст не влияли на активность ЛДГ.

В дозе 2 г йода/кг РКС, кроме ультрависта, активировали ЛДГ. После введения йодамида величина активности фермента была $19,71 \text{ Е/мл}/10^2$, триомбрата — $18,21 \text{ Е/мл}/10^2$, перитраста — $15,63 \text{ Е/мл}/10^2$, билигноста — $18,74 \text{ Е/мл}/10^2$, гексабрикса — $13,04 \text{ Е/мл}/10^2$, мелитраста — $14,63 \text{ Е/мл}/10^2$, омни-

пака — $13,54 \text{ Е/мл}/10^2$. По показателю активности ЛДГ крысы опытных групп были толерантны к введению магневиста и дипентаста в дозе 0,3 мМ/кг, аналогичной диагностической дозе РКС 2 г йода/кг. Способность активировать ЛДГ уменьшается в ряду препаратов:

йодамид \geq билигност \geq триомбрат > перитраст > мелитраст > омнипак > гексабрикс ($p(\text{Ho})_v = 0,01$).

В диапазоне диагностических доз и соответствующих им концентраций *in vitro* зависимость доза/концентрация — эффект не является характерной особенностью прямого влияния РКС и МКС на ферментативную активность ЛДГ крови.

По результатам экспериментальных исследований, представленных в табл. 1 и 2, можно судить о механизме изменения активности ЛДГ. Как видно из табл. 2, действие РКС на активность ЛДГ сыворотки крови *in*

Таблица 2. Активность ЛДГ в сыворотке крови крыс после внутривенного введения контрастных средств ($M \pm m$)

Препарат	Доза	Активность ЛДГ ($\text{Е/мл}/10^2$)**
Йодамид, г йода/кг	0,5	$4,73 \pm 0,16^*$
	1,0	$9,62 \pm 0,19$
	2,0	$19,71 \pm 0,22^*$
Триомбрат, г йода/кг	0,5	$4,84 \pm 0,19^*$
	1,0	$9,30 \pm 0,21^*$
	2,0	$18,21 \pm 0,21^*$
Перитраст, г йода/кг	0,5	$5,27 \pm 0,21^*$
	1,0	$10,74 \pm 0,18$
	2,0	$15,63 \pm 0,17^*$
Билигност, г йода/кг	0,5	$4,18 \pm 0,25^*$
	1,0	$6,51 \pm 0,32^*$
	2,0	$18,74 \pm 0,40^*$
Гексабрикс, г йода/кг	0,5	$6,32 \pm 0,15^*$
	1,0	$10,13 \pm 0,20$
	2,0	$13,04 \pm 0,21^*$
Мелитраст, г йода/кг	0,5	$7,24 \pm 0,39^*$
	1,0	$10,83 \pm 0,22$
	2,0	$14,63 \pm 0,14^*$
Омнипак, г йода/кг	0,5	$6,90 \pm 0,33^*$
	1,0	$9,43 \pm 0,18$
	2,0	$13,54 \pm 0,14^*$
Ультравист, г йода/кг	0,5	$7,27 \pm 0,15^*$
	1,0	$9,59 \pm 0,24$
	2,0	$8,78 \pm 0,19$
Магневист, мМ/кг	0,1	$7,19 \pm 0,21^*$
	0,2	$9,54 \pm 0,23$
	0,3	$10,03 \pm 0,19$
Дипентаст, мМ/кг	0,1	$7,26 \pm 0,19^*$
	0,2	$10,30 \pm 0,26$
	0,3	$10,15 \pm 0,20$

Примечание. ** — среднее значение активности ЛДГ в сыворотке крови крыс контрольной группы составило $9,57 \pm 0,88 \text{ Е/мл}/10^2$.

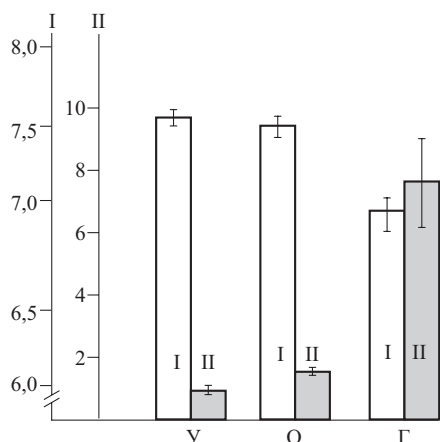


Рис. 1. Активность ЛДГ в сыворотке крови крыс опытных групп после инкубации крови с РКС в концентрации 30 мг йода/мл ($M \pm m$) (по оси ординат I, E/мл/10²) и показатель связывания РКС в концентрации 1,2 мг йода/мл плазмы с белком плазмы крови, измеренный равновесным диализом по Шолтану (% \pm стандартное отклонение) (по оси ординат II, усл. ед.).

У — ультравист, О — омнипак, Г — гексабрикс. Среднее значение активности ЛДГ в сыворотке крыс контрольной группы составило $10,61 \pm 0,94$ E/мл/10².

in vivo имеет особенность — альтернативный эффект в минимальной и максимальной дозах. В дозе 0,5 г йода/кг йодамид, триомбрас, перитраст, билигност, гексабрикс, мелитраст и омнипак ингибировали, а в дозе 2 г йода/кг — активировали ЛДГ.

Для выяснения механизма этих реакций мы сравнили полученные результаты в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. РКС *in vitro* ингибируют активность ЛДГ (см. табл. 1), проведение экспериментов *in vitro* связано с тем, что препараты непосредственно воздействуют на кровь и исключаются реакции на РКС других тканей организма. По-видимому, ингибирование активности ЛДГ при введении РКС в дозе 0,5 г йода/кг зависит от прямого влияния препаратов на кровь. Из литературы известно РКС-ингибирующее действие на внеклеточные ферменты (лизоцим, холинэстеразу) [12]. Одним из механизмов ингибирования ферментативной активности является химическое связывание с молекулой белка-фермента [4, 12, 13]. Не исключено, что РКС могут таким же образом изменять функцию ЛДГ. Поэтому мы провели математический анализ показателей активности ЛДГ в сыворотке крови крыс опытных групп после инкубации крови с РКС в концентрации 30 мг йода/мл, когда ингибирующий эффект РКС выражен наиболее сильно (см. табл. 1), с одной стороны, и литературными данными о белоксвязывающей способности РКС в плазме крови [12], с другой (рис. 1). Ультравист и омнипак, имеющие сходную величину белоксвязывающей активности, в одинаковой степени ингибируют активность ЛДГ ($p(\text{Ho})_v > 0,05$). Белоксвязывающая активность гексабрикса выше, чем у омнипака в 5 раз и ультрависта в 7,5 раза ($p(\text{Ho})_v = 0,005$ для обеих пар сравниваемых \bar{x})

и степень ингибирования гексабриксом активности ЛДГ больше, чем у обоих препаратов ($p(\text{Ho})_v = 0,01$ для обеих пар сравниваемых \bar{x}). Табличным методом сопряженных признаков мы доказали верность выдвинутого предположения — ингибирование активности ЛДГ сыворотки под действием РКС *in vitro* пропорционально их белоксвязывающей активности (критерий Пирсона $\chi^2 = 12,4 > \chi_{01}^2 = 6,63$ при критерии Романовского $8,14 > 3$, $v = 1$). Согласно этим расчетам, РКС снижают активность ЛДГ в сыворотке крови, прямо ингибируя фермент.

Рассчитанная зависимость ингибирующего действия РКС на активность ЛДГ от типа препарата (особенности химической структуры/физико-химических свойств) идентична при введении РКС в дозе 0,5 г йода/кг и действию в концентрациях 0,03, 0,3 мг йода/мл, что указывает на одинаковый механизм ингибирования ЛДГ под действием РКС *in vivo* и *in vitro*. Рассчитанная связь силы ингибирования ЛДГ и белоксвязывающей способности РКС на основании экспериментальных результатов *in vitro* справедлива при действии РКС *in vivo*. Полученные данные об ингибирующем эффекте РКС на активность ЛДГ могут служить объяснением сведений [21] о снижении окислительных реакций в плазме крови под действием РКС.

В дозе 2 г йода/кг эффект РКС на ЛДГ изменяется — активность фермента в сыворотке повышается. Так, через 15 мин после введения йодамида активность ЛДГ увеличилась более чем в два раза (см. табл. 2). ЛДГ является индикаторным цитоплазматическим ферментом клеток практически всех тканей организма животных и человека, существует сильный градиент концентрации между содержанием этого фермента в клетках и интерстиции [4, 17]. Выход ЛДГ происходит только при токсическом воздействии на клетки. Еще в 80-е годы определение активности ЛДГ в инкубационной среде использовалось для выяснения возможности высвобождения гистамина из тучных клеток и базофильных лейкоцитов, а также серотонина из тромбоцитов под действием РКС [20, 25, 26].

Повышение дозы РКС в четыре раза (от 0,5 до 2 г йода/кг) увеличивает вероятность токсических эффектов препаратов на организм. При внутривенном введении РКС контактируют, прежде всего, с эндотелием сосуда и клетками крови. Эндотелийповреждающее действие РКС связано с осмотичностью препаратов [12, 23]. На рис. 2 представлены показатели активности ЛДГ в сыворотке крови крыс после внутривенного введения различных РКС в дозе 2 г йода/кг и показатели осмотичности этих препаратов (литературные данные): чем выше осмотичность РКС, тем больше показатель активации ЛДГ. Корреляционный анализ выявил связь между фармакодинамическим эффектом и физико-химическим свойством РКС ($r = 0,859 > 3m_r = 0,543$, $t_r = 4,74 > t_{v=8}^{01} = 3,355$, достоверность с вероятностью 99%).

Можно заключить, что повышение активности ЛДГ связано с “выходом” фермента из эндотелиальных клеток в результате их токсического поражения высокоосмотическими РКС, вводимыми в дозе 2 г йода/кг. Повреждение эндотелия под действием РКС может происходить и опосредованно. Эндотелийповреждающее действие отмечено у гистамина и анафилатоксина $C3_{\alpha}$ [19, 23], которые появляются в крови в результате гистаминвысвобождающего и комплементактивирующего эффектов РКС [12, 14, 15, 22]. Источником повышения активности ЛДГ при внутривенном введении РКС в дозе 2 г йода/кг могут служить эритроциты. Эти клетки не имеют митохондрий и АТФ в них образуется только путем гликолиза. Вследствие этого содержание ЛДГ в эритроцитах в 100 раз выше, чем в сыворотке крови [4]. При токсическом лизисе эритроцитов, вызываемом гиперосмотическими РКС [12], в сосудистое русло будет выходить большое количество фермента.

При введении ультрависта, магневиста и дипентаста в организме создается небольшая осмотическая нагрузка в сравнении с билигностом, йодамидом, триомбрастом и перитрастом. При этом осмотическая нагрузка, создаваемая в сосудистом русле магневистом в дозе 15 мл для человека массой 75 кг, равна таковой для ультрависта в дозе 150 мл при концентрации иопромиды 300 мг йода/мл [10]. Согласно нашим данным, ультравист, магневист и дипентаст не вызывали повышение активности ЛДГ в сыворотке крови крыс через 15 мин после их введения в дозах 2 мг йода/кг и 0,1 мМ/кг, в отличие от высокоосмотических ионных препаратов.

Альтернативный эффект в разных дозах не является универсальной характеристикой влияния РКС на активность ЛДГ крови. Так, йодамид и триомбраст в концентрации 10^{-4} М ингибируют, а в концентрации 10^{-3} М активируют ФГА-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов периферической крови здоровых доноров [5]. Билигност, гексабрикс, омнипак, ультравист в концентрации 1 мг йода/мл и магневист в концентрации 0,2 мг гадолия/мл стимулируют, а в концентрациях 10 мг йода/мл и 2 мг гадолия/мл, соответственно, ингибируют хемиллюминесценцию резидентных макрофагов [7].

Далее мы провели математический анализ возможной связи между способностью РКС изменять активность ЛДГ в крови и показателем токсичности (LD_{50}) этих препаратов. Значения LD_{50} исследованных контрастных средств были взяты из монографий — П. В. Сергеева “Рентгеноконтрастные средства” (1971), П. В. Сергеева и соавт. “Рентгеноконтрастные средства” (1980), П. В. Сергеева и соавт. “Контрастные средства” (1993) [12], проспектов и научно-информационных изданий на препараты соответствующих фирм. Табличным методом сопряженных признаков доказано, что разница между показателями степени

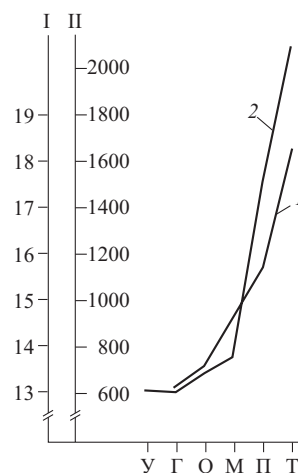


Рис. 2. Активность ЛДГ в сыворотке крови крыс опытных групп после внутривенного введения РКС дозе 2 г йода/кг ($M \pm m$) (по оси ординат I, Е/мл/10²) и показатель осмотичности РКС при концентрации йода 300 мг/мл и 37°C (по оси ординат II, мОсм/кг · Н₂О).

I — активность ЛДГ, 2 — показатель осмотичности. T — триомбраст, П — перитраст, М — мелитраст, О — омнипак, Г — гексабрикс, У — ультравист. Среднее значение активности ЛДГ в сыворотке крови крыс контрольной группы составило $9,57 \pm 0,88$ Е/мл/10².

активации ЛДГ в крови для различных РКС при их внутривенном введении в дозе 2 г йода/кг закономерно связана с разницей LD_{50} этих же препаратов (критерий Пирсона $X^2 = 29,7 > X_{01}^2 = 6,63$ при критерии Романовского $20,29 > 3$). Аналогичные результаты для показателей степени ингибирования активности ЛДГ при введении РКС в дозе 0,5 г йода/кг с $X^2 = 7,225 > X_{05}^2 = 6,63$ и критерием Романовского $4,40 > 3$. Однако гипотеза, предполагающая отсутствие существенных различий между сравниваемыми данными, для различных показателей степени ингибирования активности ЛДГ разных РКС *in vitro* и их показателями LD_{50} , отвергается согласно $X^2 = 14,6 > X_{05}^2 = 6,63$ и критерию Романовского $9,62 > 3$. Таким образом, степень активации ЛДГ под действием РКС *in vivo* и выраженность ингибирования активности ЛДГ под действием РКС *in vivo* и *in vitro* математически связаны с их LD_{50} .

Чтобы выяснить роль показателя изменения активности ЛДГ крови в токсичности конкретного препарата, мы провели корреляционный анализ между степенью активации/ингибирования ЛДГ под действием разных РКС и их величинами LD_{50} . Зависимость между степенью активирования ЛДГ в дозе РКС 2 г йода/кг и показателями LD_{50} препаратов значительная: $r_{xy} = -0,879$ с $m_r = 0,180$ и $t_r = r_{xy}/m_r = |-4,874| > t_{v=7}^{01} = 3,499$ (данному коэффициенту корреляции r_{xy} можно доверять со степенью вероятности $\geq 99\%$). Корреляционная связь между различными показателями степени ингибирования активности ЛДГ, вызываемого разными РКС в дозе 0,5 г йода/кг и их значения-

ми ЛД₅₀ — слабая ($r_{xy} = -0,186$ при $m_r = 0,348$). Однако рассчитанный коэффициент корреляции не достоверен — $|t_r| = -0,534 < t_{v=8}^{0,05} = 2,306$. Чтобы судить о достоверности отсутствия корреляции в данном случае необходима большая статистическая выборка — более восьми РКС с известными значениями степени ингибирования ЛДГ в дозе 0,5 г йода/кг и их показателями ЛД₅₀. Ингибирование активности ЛДГ различными РКС *in vitro* коррелирует с ЛД₅₀ препаратов согласно рассчитанным $r_{xy} = 0,713$, $m_r = 0,090$, $t_r = 7,943$. Таким образом, степень ингибирования активности ЛДГ в крови *in vitro* в концентрации РКС 0,03 ÷ 30 мг йода/мл и, в большей степени, величина активации ЛДГ в крови при внутривенном введении РКС в дозе 2 г йода/кг, являются достоверными показателями токсичности препаратов рентгеноконтрастных веществ.

В крови и других жидкостях организма в норме содержится определенное количество ЛДГ и связанное с активностью фермента соответствующее количество пирувата и лактата. При ряде заболеваний количество ЛДГ в крови резко возрастает. Поэтому с точки зрения безопасности проведения магнитно-резонансной и компьютерной томографии, а также других видов диагностических исследований нежелательным является повышение ферментативной активности ЛДГ под действием контрастных препаратов в высоких дозах (см. табл. 2). Это может вызвать нарушение кислотно-щелочного состояния крови по типу декомпенсированного метаболического ацидоза и изменение рН крови. Больные с патологией, характеризующейся выраженным повышением сывороточной ЛДГ, — лейкомия, инфаркт миокарда, гепатоцеллюлярный некроз, метастатическая карцинома, диабетический кетоз, инфекционный мононуклеоз, инфаркт мозга, приступы бронхиальной астмы [3], составляют “группу риска” при проведении контрастных исследований, особенно ионными РКС.

В механизме повышения сосудистой проницаемости и развития отеков при аллергии большое значение придается ацидотическому сдвигу реакции крови. Поэтому больных с аллергией, в том числе на ранее проводимые рентгеноконтрастные исследования, составляющих до 20% всех пациентов [12], возможно повторение осложнений этого типа при введении РКС.

Рентгеноконтрастные исследования ионными препаратами следует проводить с осторожностью у больных при патологических процессах, сопровождающихся увеличением в крови пирувата выше нормы — 114 мкМ (1 мг%) — токсикозах, жировой дистрофии печени, целиакии, авитаминозе В₁, при заболеваниях, характеризующихся лактатацидозом с повышением концентрации лактата в плазме более 0,17 мг/мл [2] — шок, различные виды тканевой гипоксии, сахарный диабет, легочная и сердечная недостаточность, хронические инфекции, алкоголизм. Наличие у больных со-

стояний с развитием других видов метаболического ацидоза — тиреотоксикоз, лихорадка, недостаточность надпочечников, голодание — также представляет угрозу развития осложнений при введении РКС в высоких дозах.

Особое внимание рентгенологов должны привлекать больные с патологией почек [14]. При почечной недостаточности со сниженной гломерулярной фильтрацией протонов возникает метаболический ацидоз. В условиях ацидоза в тканях возрастает концентрация аденозина, который вызывает сужение сосудов в почках [16]. Сами РКС, в высоких дозах не только активируют ферментативную активность ЛДГ в крови (см. табл. 2), но после непродолжительного увеличения снижают почечный кровоток, что может сопровождаться развитием нефропатии. Современные РКС гексабрикс и омнипак при введении пациентам с хроническими заболеваниями почек могут вызвать острую почечную недостаточность [12]. Поэтому проведение рентгеноконтрастной диагностики мономерными и димерными ионными препаратами (йодамид, триомбрат, перитраст, билигност) у больных с хронической почечной недостаточностью на фоне ацидоза нежелательно.

Зная ингибирующее ферментативную ЛДГ активность действие РКС и МКС в низких диагностических дозах (см. табл. 2), необходимо учитывать, что контрастная диагностика нередко проводится у больных на фоне приема ими препаратов различных фармакологических групп. Так, ацетилсалициловая кислота, подобная по структуре молочной кислоте, является алкилирующим обратимым ингибитором ЛДГ экзотипа [1]. Кроме салицилатов, метаболический ацидоз может вызвать длительный прием осмотических и калийсберегающих диуретиков, ингибиторов карбоангидразы. Гепарин, содержащийся в тучных клетках, ингибирует ферментативную активность ЛДГ. Не исключено, что РКС, особенно ионные препараты, вызывая дегрануляцию тучных клеток [12, 13], будут косвенно, за счет повышения в крови концентрации гепарина, подавлять активность ЛДГ.

Согласно проведенному исследованию, наиболее безопасными среди РКС являются неионные мономерные препараты ультравист, мелитраст, омнипак. Гадолинийсодержащие МКС магневист и дипентаст не являются более токсичными, чем низкоосмотические неионные мономерные РКС.

ВЫВОДЫ

1. При внутривенном введении в дозе 2 г йода/кг йодамид ≥ билигност ≥ триомбрат > перитраст > мелитраст > омнипак > гексабрикс повышают активность лактатдегидрогеназы сывотки крови крыс на 36 ÷ 106%, что пропорционально коррелирует с осмотичностью препаратов.

2. При внутривенном введении в дозе 0,5 г йода на 1 кг (рентгеноконтрастные средства) и 0,1 мМ/кг (магнитно-резонансные контрастные средства) билигност > йодамид ≥ триомбраз > перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст ≥ ультравист = магневист = дипентаст ингибируют активность лактатдегидрогеназы сыворотки на 24 – 56%.

3. В концентрациях 0,03 ÷ 30 мг йода/мл (рентгеноконтрастные средства) и 0,2 ÷ 1 мг гадолиния/мл (магнитно-резонансные контрастные средства) билигност > йодамид ≥ триомбраз ≥ перитраст > гексабрикс > омнипак = мелитраст ≥ ультравист = магневист = дипентаст ингибируют лактатдегидрогеназу сыворотки на 16 ÷ 47%, что для рентгеноконтрастных средств прямо пропорционально их белоксвязывающей активности.

4. Неионные мономерные рентгеноконтрастные средства (ультравист, мелитраст, омнипак) по показателю изменения активности лактатдегидрогеназы сыворотки крови крыс безопаснее, чем ионные препараты — билигност, йодамид, триомбраз, перитраст.

5. Величины повышения активности лактатдегидрогеназы в крови крыс при внутривенном введении рентгеноконтрастных средств в дозе 2 г йода/кг и ингибирования ее ферментативной активности *in vitro* в концентрациях 0,03 ÷ 30 мг йода/мл являются достоверными показателями токсичности этих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Альберт, *Избирательная токсичность*, Москва (1989).
2. Ю. А. Ершов, Н. Н. Мушкамбаров, *Кинетика и термодинамика биохимических и физиологических процессов*, Москва (1990).
3. А. В. Лаврентьев, О. В. Зайцева, Г. А. Самсыгина, *Материалы V Росс. национ. конгр. "Человек и лекарство"*, Москва (1998), с. 290.
4. Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл, *Биохимия человека*, Москва (1993).
5. Ю. К. Наполов, Н. Л. Шимановский, Е. В. Маркина, П. В. Сергеев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **57**(2) 54 – 57 (1994).
6. Ю. К. Наполов, Е. Н. Болотова, Е. В. Залевская и соавт., *Бюл. exper. биол.*, **126**(11), 542 – 545 (1998).
7. Ю. К. Наполов, Н. Л. Шимановский, А. А. Калинина, В. А. Петров, *Бюл. exper. биол.*, **126**(12), 658 – 661 (1998).
8. *Общее руководство по радиологии*, Н. Pettersson (ред.), Москва (1996).
9. И. Х. Рабкин, *Вестн. рентгенол.*, **6**, 58 – 61 (1994).
10. Редакционная статья, *Вестн. рентгенол.*, **2**, 4 – 8 (1994).
11. П. В. Сергеев, Ю. К. Наполов, Н. А. Константинова, Н. Л. Шимановский, *Фармакол. токсикол.*, **4**, 54 – 56 (1990).
12. П. В. Сергеев, Н. К. Свиридов, Н. Л. Шимановский, *Контрастные средства*, Москва (1993).
13. П. В. Сергеев, П. А. Галенко-Ярошевский, Н. Л. Шимановский, *Очерки биохимической фармакологии*, Москва (1996).
14. П. В. Сергеев, Н. К. Свиридов, Ю. А. Поляев, Н. Л. Шимановский, *Вестн. рентгенол.*, **6**, 45 – 47 (1999).
15. П. В. Сергеев, Ю. К. Наполов, Н. Л. Шимановский, *Аллергия, астма и клин. иммунол.*, **7**, 41 – 46 (2000).
16. Н. А. Федоров, М. Г. Радуловацкий, Г. Е. Чехович, *Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине*, Москва (1990).
17. П. Хочачка, Дж. Сомеро, *Биохимическая адаптация*, Москва (1988).
18. C. Christian, W. J. Pichler, and T. Skotland, *Eur. Radio.*, **10**, 1965 – 1975 (2000).
19. C. J. Davidson, D. B. Mark, K. S. Pieper, et al., *Amer. J. Cardiol.*, **65**, 1481 – 1484 (1990).
20. S. R. Findlay, A. M. Dvorak, A. Kagey-Sobotka, and L. M. Lichtenstein, *J. Clin. Invest.*, **67**, 1604 – 1613 (1981).
21. P. P. Harnish, T. W. Morris, H. W. Fischer, and A. N. King, *Invest. radio.*, **15**(3), 248 – 259 (1980).
22. D. Laroche, F. Namour, C. Lefrancois, et al., *Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, **54**(58), 13 – 16 (1999).
23. E. C. Lasser, *Amer. J. Roentgenol.*, **149**(6), 1281 – 1285 (1987).
24. *Magnevist*, R. Felix, A. Heshiki, N. Hosten, H. Hricar (eds.), Oxford (1994).
25. J. Ring and M. Sovak, *Invest radiol.*, **16**(3), 245 – 248 (1981).
26. R. R. Schellenberg, *Immunology*, **41**(1), 123 – 129 (1980).

Поступила 20.09.2001

THE EFFECT OF DIAGNOSTIC CONTRAST MEDIA ON THE ACTIVITY OF LACTATE DEHYDROGENASE IN RAT BLOOD

Yu. K. Napolov and N. L. Shimanovskii

Department of Molecular Pharmacology and Radiobiology, State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117437 Russia

It is shown that the diagnostic Roentgen contrast media (RCM) in a dose of 2.0 g iodine/kg increase the activity of lactate dehydrogenase in rat blood, the effect decreasing in the following order: iodamide > bilignost > triombrast > peritraz > melitraz > omnipaque > hexabrix. At the same time, the RCM in a dose of 0.5 g iodine/kg (iodine concentration, 0.03 – 30 mg/ml) and gadolinium-containing magnetic-resonance contrast media (MRCM) in a dose of 0.1 mM/kg (gadolinium concentration, 0.2 – 1 mg/ml) inhibit the enzyme, the effect decreasing in the following order: bilignost = iodamide = triombrast = peritraz > hexabrix > omnipaque = melitraz = ultravist = magnevist = dipentast. The mechanism of action of the contrast media on the LDH activity was studied and it was found that changes in the enzyme activity is correlated with the toxicity (LD 50) of RCM. The groups of risk from the standpoint of side reactions to the intravenous RCM introduction are determined.