

КОРРЕКЦИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ЖЕЛЕЗА: ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Е. В. Воробей

(МГУ имени А. А. Кулешова, Могилев, Беларусь)

В работе обсуждаются результаты влияния отечественных парентеральных препаратов железа на состояние гемостазиологического равновесия и фибринолитическую активность. Выявлено, что металлодекстраны вызывают прогрессирующий гемостатический дисбаланс, который характеризуется увеличением концентрации фибриногена, признаками тромбинемии и дисбаланса фибринолитической активности. Полученные данные имеют прикладное значение в понимании механизмов возникновения токсических эффектов препаратов железа для парентерального применения.

Ключевые слова: металлодекстраны, апоптогические изменения, тромбинемия.

Коррекция железодефицитных состояний (ЖДС) представляет собой актуальную проблему современной медицины. В настоящее время разработан достаточно широкий спектр препаратов для их коррекции, представленный пероральными и парентеральными формами. Среди парентеральных для коррекции ЖДС наибольшее распространение получили препараты, созданные на основе комплексно связанного железа с декстраном, декстрином или мальтозой. К подобным препаратам относятся и отечественные разработки «Рондферрин» и «Спейсферрон», содержащие помимо Fe^{2+} комплексносвязанные Co^{2+} (спейсферрон), Co^{2+} и Cu^{2+} (рондферрин) [1]. Среди известных токсических эффектов парентеральных препаратов железа следует отметить повышение частоты риска артериальных тромбозов и развитие тромбоцитопений, механизм формирования которых остается до конца неясным [2]. Влияние самих по себе комплексно связанных с декстраном Fe^{2+} , Co^{2+} и Cu^{2+} , а

тем более их комбинации на состояние гемостазиологического равновесия остается практически неизученным, а использование декстрана таит в себе опасность индукции тромбоцитопении *in vivo*, что и определяет актуальность настоящего исследования.

Материалы и методы исследования: Объектом настоящего исследования послужили образцы венозной крови, полученной при пункции *v. cubitalis* 98 добровольцев мужчин в возрасте от 18 до 35 лет, не принимавших на момент исследования никаких лекарственных препаратов. Металлодекстраны (МД) добавлялись в образцы цельной крови *in vitro* (в дозировках 70 мкл/мл для рондферрина и 10 мкл/мл для спейсферрона), что не превышает среднетерапевтических доз и позволяет избежать прямых токсических эффектов [2]. С целью исключения влияния декстрана самого по себе проведено аналогичное исследование при инкубации образцов крови с неорондексом (препарат на основе «чистого» декстрана, в дозировке 70 мкл/л). В дальнейшем образцы крови с препаратами инкубировались в пластиковых тубах при 37°C с оценкой состояния коагуляционного гемостаза и фибринолитического потенциала через 60 и 180 минут от начала инкубации образцов крови с МД по сравнению с исходными значениями. Состояние коагуляционного гемостаза было исследовано с помощью следующей серии тестов: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ); протромбиновый индекс (ПТИ), подтверждаемый МНО (международным нормализованным отношением); определение концентрации фибриногена, позволяющего по тесту тромбинового времени в разведении определить содержание функционально активного фибриногена; тромбиновое время (ТВ); концентрация растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ) количественным седиментационным методом в капилляре при модификации b-нафтолового, этанолового и протамин-сульфатного тестов. Фибринолитический потенциал оценивался по тестам хагеман – (ХЗФ) и эуглобулин-зависимого фибринолиза (ЭЗФ) [2]. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета программ «Statistica 6.0» с использованием параметрических (t-тест для зависимых переменных) и непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни). Сравнение гистограмм распределения количественных признаков проводилось с использованием критерия Колмогорова-Смирнова.

Результаты и их обсуждение: Изменения состояния коагуляционного гемостаза и фибринолитического потенциала в ответ на кратко-

временную (60 минут) инкубацию образцов крови с МД по сравнению с неорондексом представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состояние гемостазиологического равновесия при введении металлодестрановых препаратов *in vitro* при кратковременной инкубации ($X \pm SD$; $n=43$)

Параметры гемостазиограммы	Контрольные значения	60 минут инкубации при 37°C		
		Неорондекс	Рондферрин	Спейсферрон
АЧТВ, с	35,69±2,25	38,00±5,65	36,78±3,84	34,54±3,83*,**
ПТИ, у.е	0,93±0,05	0,94±0,06	0,93±0,04	0,92±0,07
МНО	1,11±0,06	1,10±0,07	1,09±0,03	1,12±0,08
Фибриноген, г/л	3,22±0,63	3,10±0,35	3,48±0,62**,***	3,95±0,52*,**
РКМФ, мл/л:				
в- нафтоловая проба	80,77±20,08	81,00±20,11	83,92±25,58	109,10±35,69*,**
- этаноловая проба	2,61±1,85	2,40±1,71	3,92±2,58*,**	5,00±1,73*,**
- протамина-сульфатная проба	21,15±3,62	20,00±3,33	23,57±6,91*	22,27±4,10*
ТВ, с	16,38±5,92	16,70±6,21	14,35±0,49*,**	14,81±0,87*,**
ЭЗФ, мин.	155,76±20,59	155,00±29,34	144,54±16,65*	170,45±46,44*, ***
ХЗФ, с	280,00±89,04	274,50±102,72	625,00±267,868"	351,00±128,55*, ***

*—достоверные различия по сравнению с исходными значениями;

**—достоверные различия по сравнению с неорондексом;

***—достоверные различия между обоими МД.

Уже через 60 мин. после введения спейсферрона обнаружено укорочение АЧТВ, тогда как ни после введения неорондекса, ни рондферрина по первой фазе коагуляционного гемостаза достоверных изменений не обнаружено. По второй фазе свертывания крови достоверных изменений не выявлено ни с одним из МД (в т. ч. с неорондексом). По третьей фазе свертывания крови наблюдается статистически значимый рост концентрации фибриногена после введения как спейсферрона, так и рондферрина (в частности, в эксперименте со спейсферроном концентрация фибриногена выросла с 3,22±0,63 до 3,95±0,52г/л, $p<0.05$).

Отмечается также однонаправленный рост концентрации РКМФ, свидетельствующий о развитии тромбинемии *in situ*, что подтверждается и укорочением тромбинового времени до $14,35 \pm 0,49$ с (в эксперименте с рондферрином) по сравнению с $16,38 \pm 5,92$ с, $p < 0,05$. Описанные изменения указывают на возможность тромбин-индуцированных апоптотических изменений тромбоцитов, поскольку тромбин является одним из хорошо изученных индукторов запуска апоптоза этих форменных элементов, по крайней мере, это объясняет изменения функциональной активности тромбоцитов. Тенденция к гиперкоагуляции сопровождается и изменениями фибринолитической активности: торможением ХЗФ (с $280,0 \pm 89,04$ до $625,00 \pm 267,86$ с после введения рондферрина, $p < 0,05$) при устойчивой тенденции к активации ЭЗФ ($144,54 \pm 16,65$ мин. после введения этого МД по сравнению с исходным $155,76 \pm 20,59$ мин., $p < 0,05$). Таким образом, кратковременный эксперимент с МД вызвал значимые изменения гемостазиологического равновесия, которые связаны с развитием гиперкоагуляции и ростом концентрации фибриногена. Результаты исследования концентрации РКМФ указывают на развитие тромбинемии. Кратковременная экспозиция привела и к изменениям фибринолитической активности. Ее усиление, по данным ЭЗФ, в некоторой степени предотвращает смещение гемостазиологического равновесия при введении рондферрина. Наибольший интерес представляет наблюдаемый рост концентрации фибриногена *in vitro*, тогда как основная масса этого фактора коагуляционного каскада *in vivo* синтезируется печенью. Источники свертываемого фибриногена в разработанной нами модели *in vitro* остаются не ясными и, вероятно, имеет клеточную природу.

Дальнейшие результаты исследования динамики свертывающей и противосвертывающей систем крови при продолжении эксперимента представлены в таблице 2.

При продолжении эксперимента параметры коагуляционного гемостаза стабилизируются, однако, при инкубации с рондферрином отмечается умеренное удлинение АЧТВ ($42,78 \pm 3,86$ по сравнению с $35,69 \pm 2,25$ с до эксперимента, $p < 0,05$). Увеличение времени инкубации с МД (в отличие от неорондекса), сопровождается и дальнейшим ростом концентрации фибриногена (до $4,12 \pm 0,32$ г/л, $p < 0,05$), а также РКМФ, укорочением тромбинового времени и разнонаправленными изменениями фибринолитической активности. Так, при инкубации с

рондферрином отмечается торможение ХЗФ и активация ЭЗФ, а после введения спейсферрона регистрируется лишь умеренное торможение ХЗФ при сохранении активности ЭЗФ.

Таблица 2. Состояние гемостазиологического равновесия при введении металлодекстрановых препаратов *in vitro* при продолжении эксперимента ($X \pm SD$; $n=43$)

Параметр гемостазиограммы	Контроль-ные значения	180 минут инкубации при 37°C		
		Неорондекс	Рондферрин	Спейсферрон
АЧТВ, с	35,69±2,25	35,27±3,79	42,78±3,86*	35,18±2,67
ПТИ, у.е	0,93±0,05	0,94±0,06	0,92±0,07	0,90±0,04
МНО	1,11±0,06	1,10±0,05	1,12±0,08	1,13±0,05
Фибриноген, г/л	3,22±0,63	2,97±0,30	4,70±2,76*	4,12±0,32*
РКМФ, мл/л:				
в-нафтоловая проба	80,77±20,08	59,54±20,30*	86,78±28,12*	83,18±26,38
– этаноловая проба	2,61±1,85	1,63±0,92*	3,71±2,46*	4,90±3,47*, **
– протаминасульфатная проба	21,15±3,62	17,27±3,43*	24,23±5,34	24,09±6,25
ТВ, с	16,38±5,92	16,00±6,06	14,07±0,07*	15,00±6,25*
ЭЗФ, мин.	155,76±20,59	151,36±31,07	183,33±33,05*	146,00±39,42*, ***
ХЗФ, с	280,00±89,04	290,45±110,73	756,78±362,01*, **	346,66±85,84*, ***

* – достоверные различия по сравнению с исходными;

** – достоверные различия по сравнению с неорондексом;

*** – достоверные различия между представленными металлодекстрановыми препаратами.

Результаты исследования на данном этапе показали, что изменения гемостазиологической картины через 180 минут инкубации соответствуют тем, которые получены в предыдущем эксперименте. Отмечается усугубление нарушения гемостатического баланса, которое проявляется «нормализацией» АЧТВ. Однако обращает на себя внимание сохраняющийся дисбаланс остальных параметров гемостаза, которая указывает на то, что исчезновение гиперкоагуляции с увеличением вре-

мени инкубации является предшественником развития гипокоагуляции. Обращает на себя внимание сохраняющееся повышение концентрации фибриногена, который участвует не только в образовании сгустка крови, но и в образовании фибриновых мостиков между клетками при их необратимой адгезии и агрегации. Обнаруженный на фоне выявленного в эксперименте смещения гемостазиологического равновесия рост концентрации фибриногена и его паракоагуляционных дериватов как маркеров тромбинемии.

Таким образом, можно сделать обоснованное предположение о том, что МД *in vitro* вызывают прогрессирующий гемостатический дисбаланс, который помимо дисфункции тромбоцитов, характеризуется увеличением концентрации фибриногена (клеточного происхождения), признаками тромбинемии и дисбаланса фибринолитической активности плазмы крови.

Список литературы

1. Воробей, Е. В. Коагуляционный гемостаз и фибринолитическая активность при введении металлодекстранов *in vitro* / Е. В. Воробей // Итоги научных исследований ученых МГУ имени А. А. Кулешова 2016 г. : сб. науч. ст. [материалы научно-методической конференции преподавателей и сотрудников по итогам научно-исследовательской работы в 2016 г.] / под ред. Е. К. Сычовой. – Могилев : МГУ имени А.А. Кулешова, 2017. – С. 239–241.
2. Тепляков, А. И. Роль тромбоцитов в метаболизме металлодекстранов спейсферона и рондферрина (экспериментальное исследование *in vitro*) / А. И. Тепляков, Е. В. Воробей // Веснік Магілеўскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя А. А. Куляшова. – 2006. – № 2–3 (24). – С. 203–210.