

Издательство «Наука»
Москва
Учредитель Академия наук СССР

УДК 616.45—073.916:615.272.2

В. Н. Славнов, Г. В. Валуева,
В. В. Марков, Е. В. Луцицкий

ВЛИЯНИЕ ЙОДИСТЫХ, ГИПОХОЛЕСТЕРИНEMИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И АКТГ НА ВКЛЮЧЕНИЕ МЕЧЕНОГО ХОЛЕСТЕРИНА В НАДПОЧЕЧНИКИ

В клинической практике все более широкое распространение приобретает метод радиоизотопной сцинтиграфии надпочечников с помощью 19-йодохолестерина-¹³¹I. Метод атравматичен, высоко информативен, позволяет получить изображение аденаловых желез в динамике, проводить функциональные пробы для дифференциальной диагностики их изображений [1, 2, 10, 13, 14]. Существенным недостатком данного метода является низкое накопление 19-йодохолестерина-¹³¹I в аденаловой ткани. Для визуализации надпочечников необходимо введение больших активностей меченого соединения, что, в свою очередь, обусловливает значительные лучевые нагрузки [9, 12]. Устранения указанного недостатка метода можно добиться с помощью синтеза новых меченых препаратов, селективно накапливающихся в надпочечниках, а также изыскание препаратов, повышающих накопление 19-йодохолестерина-¹³¹I в аденаловой ткани.

Мы изучали влияние йодистых, гипохолестеринемических препаратов, АКТГ на включение 19-йодохолестерина-¹³¹I и 1,2-³H-холестерина в ткани экспериментальных животных.

Методика исследований

Эксперименты проведены на крысах-самцах массой 280—300 г. 19-йодохолестерин-¹³¹I и 1,2-³H-холестерин фирмы «CEA—IRE—Sorin» (Франция) вводили внутривенно из расчета 8 мкКи/100 г массы. Животных забивали на 2, 4, 6, 8 сут после введения препаратов. Из печени, почек, надпочечников брали навески тканей или весь орган для исследования. Обработка тканей для подсчета радиоактивности проб с 19-йодохолестерином-¹³¹I проводилась по описанной ранее методике [6]. При введении 1,2-³H-холестерина навески тканей растворяли в растворителе NCS (Amersham Searle), при нагревании пробы 30 мин на водяной бане при температуре не выше 50 °C. Радиоактивность измеряли в жидкостной сцинтилляционной системе «Изокап-300» фирмы «Нуклеар Чикаго». Результаты выражали в процентах от дозы меченого холестерина на 1 г ткани или на весь орган. В указанные сроки в обменных клетках у животных собирали раздельно мочу, кал. Навески кала гомогенизировали. При работе с 1,2-³H-холестерином экстракцию аликвот мочи и кала осуществляли смесью хлороформ: метанол (2:1). Радиоактивность хлороформного экстракта измеряли как обычно, выражая результаты в процентах от активности введенной дозы за каждые сутки, а затем суммировали полученные данные за все сроки исследования.

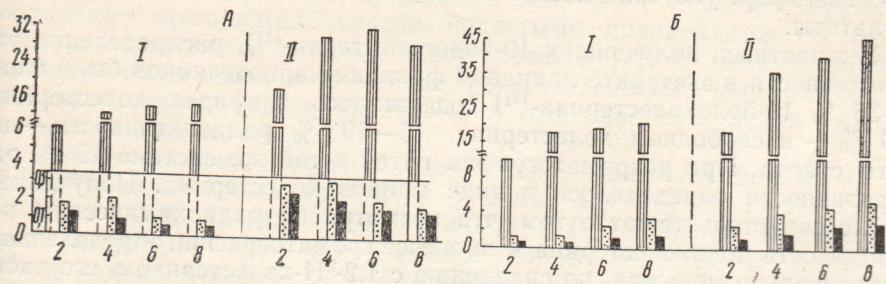
Общие липиды из надпочечников животных экстрагировали по [11]. Хлороформные экстракты выпаривали в токе азота и оставшиеся в осадке липиды подвергали тонкослойной хроматографии в системе—гексан: эфир: уксусная кислота (90:10:1 об/об). В нескольких опытах к гомогенату аденаловой ткани перед экстракцией добавляли неорганический ¹²⁵I и установили полное его отсутствие в хлороформной фазе и наличие радиоактивности только в метаноловой фазе.

Животные были разделены на шесть следующих групп: I—19-холестерин-¹³¹I (или 1,2-³H-холестерин); II—КІ (1 мг дважды в сутки) в течение 10 дней до введения меченого холестерина и после него до конца исследования; III—КІ (1 мг дважды в сутки в течение 10 дней) до введения меченого холестерина; IV—КІ (1 мг дважды

в сутки) и полиспонин (1 мг/100 г) в течение 10 дней до введения меченого холестерина; V — КI (1 мг дважды в сутки в течение 10 дней) до введения меченого холестерина, после чего полиспонин (1 мг/100 г) до конца исследования; VI — КI (1 мг дважды в сутки в течение 10 дней) до введения меченого холестерина, после чего суспензия цинк-кортикотропин (5 ед/100 г) до конца исследования. Во все сроки исследования из каждой группы брали по семь животных.

Результаты исследований и их обсуждение

Нашиими исследованиями установлено, что при введении как 1,2-³Н-холестерина, так и 19-йодохолестерина-¹³¹I наименее высокое содержание препарата (в процентах от дозы на 1 г ткани) во все сроки исследования наблюдается в надпочечниках печени, почках [6]. Содержание меченого холестерина в этих органах значительно выше при введении 1,2-³Н-холестерина, чем йодированного во все сроки исследования. Та-



Включение в ткань надпочечников (вертикальные линии), печени (точки) и почек (черные столбики) 19-йодохолестерина-¹³¹I (A) и 1,2-³Н-холестерина (Б) в различные сроки после введения.

По вертикали — процент от дозы вводимого препарата на 1 г ткани, по горизонтали — дни после введения препарата. I — интактные крысы, II — после введения АКТГ.

кая закономерность наблюдается у животных всех групп, что нашло отражение на рисунке, где в качестве примера представлены результаты исследования интактных животных и получавших АКТГ.

При введении 1,2-³Н-холестерина отмечается постепенное увеличение содержания препарата, достигающее максимума на восьмые сутки, как в надпочечниках, так и в почках (см. рисунок, Б). В отличие от меченого тритием, после введения 19-йодохолестерина-¹³¹I, наблюдается постепенное увеличение содержания препарата в надпочечниках и неизменное уменьшение — в ткани печени, почек (см. рисунок, А). При введении 19-йодохолестерина-¹³¹I, несмотря на более низкое по сравнению с 1,2-³Н-холестерином содержание препарата в аденаловой ткани, оно оказывается в 150—200 раз выше, чем в близлежащих органах (печени, почках), а при использовании 1,2-³Н-холестерина — всего в 8—15 раз. Полученные данные свидетельствуют о том, что надпочечники являются органом-мишенью для 19-йодохолестерина-¹³¹I. Однако, учитывая большую массу печени и почек, близость их расположения к аденаловым железам, относительно высокое накопление в этих тканях 19-йодохолестерина, при оценке действия указанных препаратов на накопление их в надпочечниках необходимо определять их содержание в ткани печени и почек. Для этой цели наиболее показательным является соотношение количества меченого 19-йодохолестерина в надпочечниках (в процентах от дозы на весь орган) и печени или почек.

Изучение включения меченого холестерина в ткани животных позволило установить, что для таких тканей как печень, почки, несмотря

на относительно высокое накопление 19-йодохолестерина, он является не физиологическим агентом, который, по-видимому, не подвергается метаболизму и потому быстро, в отличие от 1,2-³Н-холестерина, выводится из экстраадреналовых тканей, что доказано ранее [11].

Установив, что надпочечники являются тканью-мишенью для йодохолестерина, следует изучить состав радиоактивных продуктов в этой ткани. При применении как тритиевого, так и йодированного холестерина радиоактивность определялась только в хлороформной фазе экстракта надпочечников и практически не выявлялась в метаноловой. Это свидетельствует об отсутствии свободного йода в надпочечниках. Тонкослойная хроматография липидной фракции, эстрагированной из надпочечников крыс, получавших 1,2-³Н-холестерин, показала, что 80—85 % холестерина представлено в виде эфиров. Оставшаяся часть миграирует как свободный холестерин. Рехроматография полученных пятен в системе эфир: уксусная кислота: ацетон (40:15:1,5) дала аналогичные результаты.

У животных, получавших 19-йодохолестерин-¹³¹I, распределение радиоактивности в экстракте липидной фракции надпочечников было иное. 25—35 % 19-йодохолестерина-¹³¹I содержалось в эфирах холестерина, 4—6 % — в свободном холестерине, 15—40 % радиоактивности — на месте старта. При рехроматографии пятен в той же системе 45 % радиоактивности определялось в виде эфиров холестерина. Полученные данные свидетельствуют о том, что несмотря на радиохимическую нестабильность йодохолестерина в процессе хроматографии, определенная, но значительно меньшая, по сравнению с 1,2-³Н-холестерином, его часть переходит в ткани надпочечников в эфиры холестерина. Это позволяет удержаться йодохолестерину в ткани надпочечников, но, по-видимому, не подвергаясь дальнейшим превращениям в процессе стероидогенеза [8].

Исходя из цели работы и учитывая, что 19-йодохолестерин-¹³¹I является йодированным соединением, мы прежде всего изучали влияние йодистых препаратов, «блокирующих» щитовидную железу, как единственное депо йода и источник йодотиронинов на накопление йодохолестерина в тканях.

У интактных животных, получавших йодохолестерин, максимальное его накопление в надпочечниках наступает на восьмые сутки. Соотношение радиоактивности надпочечники / печень или почки при введении 1,2-³Н-холестерина значительно ниже во все сроки исследования, по сравнению с аналогичными данными при введении 19-йодохолестерина. Этот показатель у животных с 1,2-³Н-холестерином, достигнув максимума на вторые — четвертые сутки, остается на том же уровне, или несколько снижается на шестой — восьмой день, в то время как при йодохолестерине он неуклонно растет. Это свидетельствует об интенсивном выведении, в отличие от тритиевого, 19-йодохолестерина из ткани печени, почек и постепенном его накоплении в адреналовой ткани. Так как концентрация меченого холестерина в почках ниже, чем в печени и масса их меньше, соотношение радиоактивности надпочечники/ почки на шестые — восьмые сутки выше, чем в печени. Следовательно, накопление йодохолестерина в печени может играть существенную роль при проведении сканирования надпочечников, тогда как почки не могут служить препятствием для визуализации надпочечников. Как видно из таблицы, соотношение радиоактивности надпочечники/печень у животных I группы, получавших 19-йодохолестерин на восьмые сутки, составляет 0,57, что по-видимому, нельзя считать благоприятным для получения четкого изображения надпочечников.

Введение КI до и после $1,2\text{-}^3\text{H}$ -холестерина не оказывало влияния на включение $1,2\text{-}^3\text{H}$ -холестерина в ткань надпочечников, печени и почек (см. таблицу). При использовании 19-йодохолестерина- ^{131}I и введении КI до и на протяжении всего срока исследования соотношение радиоактивности надпочечники/печень остается почти в тех же пределах или снижается по сравнению с интактными крысами в срок от 2 до 8 сут (см. таблицу). Введение КI только до поступления в организм 19-йодохолестерина приводит к выраженному, постепенному увеличению его содержания в надпочечниках с максимумом накопления на восьмые сутки и одновременным неуклонным снижением его концентрации в печени, почках (III группа). Это обуславливает достоверное увеличение соотношения радиоактивности надпочечники/печень в данной группе по сравнению с I (см. таблицу). Изменения в накоплении 19-йодохолестерина- ^{131}I тканями крыс, получавших КI до и после меченого соединения, можно объяснить тем, что в условиях длительной «блокады» щитовидной железы йодистыми препаратами (II группа) наступает снижение синтеза йодотиронинов [7]. В силу этого любое йодистое соединение, в том числе и йодохолестерин, поступая в ткани, начинает усиленно дейодироваться, а отщепившийся йодид удаляется из организма с мочой.

Подтверждением этого предположения являются данные о выведении радиоактивных продуктов с мочой за 8 сут в I—III группах: I— $19,4 \pm 1,2\%$, II— $42,6—3,6$ ($p < 0,001$); III— $18,8 \pm 2\%$. Учитывая, что при экстракции проб мочи смесью хлороформ:метанол (2:1) более 90 % радиоактивности по ^{131}I остается в метаноловой фазе, можно заключить, что это отделившийся неорганический йодид, а не 19-йодохолестерин. При отмене йодистых препаратов после введения 19-йодохолестерина, синтез тиреоидных гормонов постепенно восстанавливается, увеличивается содержание их в тканях и снижается дейодирование, о чем свидетельствует низкий уровень йодида в моче у животных III группы. Это приводит к меньшему захвату экзогенного неспецифического йодистого соединения — 19-йодохолестерина- ^{131}I печенью, увеличению включения его в надпочечники и сдвигу соотношения радиоактивности в этих тканях в сторону последних (см. таблицу).

Наряду с йодистыми препаратами, мы изучали влияние полиспонина на распределение меченого холестерина. Полиспонин — препарат, включающий в себя несколько стероидных сапонинов, выделенных из корневищ диоскореи многокистевой. Хорошо известно, что сапонины активно реагируют с холестерином *in vitro* и *in vivo*, образуя в крови комплексные, нерастворимые соединения, разрушающие липидные комплексы, и стабилизируют дисперсность холестерина, что приводит к гипохолестеринемическому эффекту [3, 4, 5].

Как видно из представленных в таблице данных, введение полиспонина на протяжении 10 дней до поступления в организм меченого холестерина (IV группа) приводит на вторые сутки после его введения к увеличению накопления тканью надпочечников, печени, почек как $1,2\text{-}^3\text{H}$ -холестерина, так и йодированного. В последующие сроки наблюдается незначительное выведение меченого холестерина из адреналовой ткани, в то время, как в печени, почках содержание $1,2\text{-}^3\text{H}$ -холестерина и 19-йодохолестерина- ^{131}I остается на том же уровне или незначительно увеличивается.

В результате этого соотношение радиоактивности надпочечники/печень у животных IV группы, несмотря на увеличение концентрации 19-йодохолестерина- ^{131}I (в процентах от активности на 1 г), падает ниже, чем у интактных крыс.

Соотношение радиоактивности надпочечники/печень, почки при введении меченого холестерина

| Группы животных | Дни после введения меченого холестерина | | | | | |
|-----------------|---|-------------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|
| | 2 | | 4 | | 6 | |
| | 19-НДОХОЛЕСТЕРИН-11 ³¹ | 1,2-НД-холестерин | 19-НД-холестерин-11 ³¹ | 1,2-НД-холестерин | 19-НД-холестерин-11 ³¹ | 1,2-НД-холестерин |
| I группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,27±0,04 | 0,029±0,003 | 0,26±0,01 | 0,05±0,007 | 0,51±0,01 | 0,055±0,01 |
| печень | 0,34±0,06 | 0,45±0,07 | 0,44±0,05 | 0,37±0,09 | 2,7±0,7 | 0,22±0,05 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |
| II группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,15±0,03 | 0,027±0,007 | 0,32±0,05 | 0,045±0,007 | 0,35±0,06 | 0,049±0,006 |
| печень | 2,16±0,6 | 0,7±0,1 | 2,9±0,6 | 0,3±0,08 | 2,5±0,9 | 0,25±0,04 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |
| III группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,13±0,02 | 0,029±0,005 | 0,41±0,06 | 0,042±0,007 | 0,74±0,2 | 0,046±0,007 |
| печень | 1,4±0,3 | 0,4±0,06 | 3,1±0,9 | 0,12±0,05 | 4,3±1,0 | 0,18±0,004 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |
| IV группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,12±0,05 | 0,02±0,009 | 0,2±0,03 | 0,035±0,006 | 0,42±0,09 | 0,032±0,004 |
| печень | 1,46±0,5 | 0,08±0,003 | 1,2±0,4 | 0,15±0,04 | 3,5±0,7 | 0,3±0,05 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |
| V группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,11±0,05 | 0,016±0,03 | 0,34±0,07 | 0,017±0,005 | 0,62±0,1 | 0,028±0,007 |
| печень | 1,8±0,4 | 0,04±0,07 | 3,9±1 | 0,04±0,005 | 3,8±0,9 | 0,05±0,004 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |
| VI группа | | | | | | |
| Надпочечники | 0,15±0,02 | 0,04±0,005 | 0,54±0,06 | 0,19±0,03 | 0,78±0,1 | 0,3±0,02 |
| печень | 0,79±0,1 | 0,8±0,09 | 2,8±0,55 | 0,8±0,09 | 4,1±1 | 0,7±0,05 |
| Надпочечники | | | | | | |
| почки | | | | | | |

Назначение полиспонина после введения 19-йодохолестерина-¹³¹I до конца исследования также приводит к увеличению накопления его во всех исследуемых тканях на вторые сутки после введения меченого соединения. В последующие сроки в ткани печени и почек содержание йодохолестерина уменьшается, в то время как в адреналовой ткани оно неуклонно возрастает с максимумом на восьмые сутки. Это обусловливает в данный срок исследования наиболее высокое соотношение радиоактивности надпочечники/печень и способствует получению четкого изображения органа на сканограмме.

Введение полиспонина после 1,2-³Н-холестерина приводит к уменьшению включения его в ткань надпочечников, печени и почек на протяжении всего исследования, что обуславливает выраженное снижение соотношения радиоактивности надпочечники/печень по сравнению с интактными животными.

Полученные данные свидетельствуют о том, что предварительное введение полиспонина приводит к наступлению в организме животных выраженной гипохолестеринемии, образованию нерастворимых комплексов холестерина, которые выводятся с калом.

Так, у животных I группы с калом за 8 сут выводится $3,44 \pm 0,5$ % 19-йодохолестерина-¹³¹I, а в IV группе — $25,9 \pm 2,1$ ($p < 0,001$). Это способствует повышенному захвату органами (печень, почки, надпочечники) введенного меченого холестерина. Причем, повышается включение в ткани не только «физиологического» 1,2-³Н-холестерина, но и йодированного, хотя в меньшей степени, что в свою очередь обуславливает низкое соотношение радиоактивности надпочечники/печень. Повидимому, предварительное введение полиспонина не способствует получению четкого изображения надпочечников при использовании 19-йодохолестерина.

Введение полиспонина после меченого холестерина на протяжении всего срока исследования приводит, по-видимому, к постепенному развитию гипохолестеринемического эффекта, вероятно, за счет эндогенного холестерина. Это повышает захват экзогенного «не физиологического» — 19-йодохолестерина-¹³¹I. В пользу такого предположения свидетельствуют результаты исследования содержания 1,2-³Н-холестерина в ткани крыс на фоне введения полиспонина, а также данные с выведением с калом 1,2-³Н-холестерина и 19-йодохолестерина-¹³¹I. Так, у крыс, получавших 1,2-³Н-холестерин- и полиспонин, за 8 сут выводится $19 \pm 1,3$ % меченого соединения ($p < 0,001$), тогда как при введении 19-йодохолестерина-¹³¹I этот показатель составляет $-8,1 \pm 1$ %, что хотя и превышает уровень интактных крыс ($3,44 \pm 0,5$ %), но все же значительно меньше, чем при введении 1,2-³Н-холестерина.

Полученные данные свидетельствуют также, что полиспонин оказывает самостоятельное действие, изменяя обмен холестерина в организме, на включение йодохолестерина в ткани. Так, во-первых, соотношение радиоактивности надпочечники/печень на восьмые сутки у животных V группы достоверно больше, чем во II, где применяли только КI ($p < 0,05$). Во-вторых, в IV группе не отмечается увеличения исследуемого показателя в этот же срок, хотя животные и получали КI, который повышает включение 19-йодохолестерина-¹³¹I в надпочечники.

Наряду с йодистыми соединениями и полиспонином, мы изучали влияние АКТГ на включение меченого холестерина в ткани крыс. АКТГ увеличивает включение меченого холестерина в исследуемые ткани во все сроки исследования после его введения, сдвигая максимум накопления меченого соединения в надпочечниках к шестым суткам. У животных, получавших 19-йодохолестерин-¹³¹I и АКТГ, хотя и отмечается умень-

шение содержания меченого холестерина в печени, почках на четвертые, шестые сутки, однако соотношение радиоактивности надпочечники/печень было ниже 1, так как концентрация холестерина-¹³¹I в тканях была выше, чем у интактных крыс. Только на восьмые сутки, когда содержание 19-йдохолестерина в печени у животных VI группы было наименьшим, это соотношение приближалось к 1, что способствует лучшей визуализации надпочечников (см. таблицу).

Таким образом, несмотря на то, что 19-йдохолестерин-¹³¹I является «не физиологическим» соединением для организма, препараты, влияющие на обмен холестерина, могут оказывать влияние на накопление йдохолестерина в ткани надпочечников как неспецифично (полиспонин) — через изменения метаболизма эндогенного холестерина, так и специфично (АКТГ) — через образование эфиров холестерина.

Выводы

1. 19-йдохолестерин-¹³¹I преимущественно накапливается в ткани надпочечников и в значительно меньшей степени, чем «физиологический» — 1,2-³H-холестерин, включается в близлежащие к надпочечникам ткани — печень, почки.

2. Йодистые соединения, препараты, влияющие на обмен холестерина в организме — полиспонин, АКТГ повышают включение йдохолестерина в ткань надпочечников.

3. Наиболее рациональным воздействием, повышающим включение 19-йдохолестерина-¹³¹I в ткань надпочечных желез и обеспечивающим снижение его содержания в печени, является применение КИ до и полиспонина после введения 19-йдохолестерина.

V. N. Slavnov, G. V. Valuyeva, V. V. Markov, E. V. Luchitsky

INFLUENCE OF IODIC HYPOCHOLESTERINEMIC PREPARATIONS AND ACTH ON INCORPORATION OF LABELED CHOLESTEROL INTO ADRENALS

Summary

Distribution, accumulation, excretion of labelled cholesterol as well as influence of iodic, hypocholesterinemic preparation and ACTH on these processes were investigated in male rats. Accumulation and excretion of 19-iodocholesterol-¹³¹I differ significantly from those of 1,2-³H-cholesterol. Distribution of 1,2-³H-cholesterol and 19-iodocholesterol-¹³¹I in rat organs is identical. KI, hypocholesterinemic preparations, ACTH increased accumulation of 19-iodocholesterol. Application of KI before 19-iodocholesterol-¹³¹I and polysponini after it is the most rational.

Radiology Laboratory, Institute
of Endocrinology and Metabolism, Kiev

Список литературы

- Зубовский Г. А., Тураев Р. Н., Марова Е. И. Сцинтиграфия надпочечников с 19-йдохолестерином-¹³¹I.—Мед. радиология, 1978, № 1, с. 45—49.
- Касаткин Ю. Н. и др. Клиническое значение радиоизотопной визуализации надпочечников.—Клин. медицина, 1977, № 8, с. 95—98.
- Лесков А. И. и др. Полиспонин — новый лечебный препарат антисклеротического действия.—Хим. фармацевт. журн. 1976, № 1, с. 147—150.
- Милимовка М. Е. и др. Опыт лечения полиспонином больных атеросклерозом.—Врач. дело, 1971, № 1, с. 63—65.
- Першин Г. Н. Новые лекарственные средства. М.: Медицина, 1972.—92 с.

6. Славнов В. Н. и др. Применение некоторых фармакологических препаратов с целью улучшения визуализации надпочечников с I^{131} -йодохолестерином.—Мед. радиология, 1979, № 1, с. 37—41.
7. Гуракулов Я. Х. Тиреоидные гормоны. Биосинтез, физиологический эффект и механизм действия. Ташкент: Фан, 1972. 362 с.
8. Blair R. et al. Radiolabelled cholesterol as an adrenal scanning agent.—J. Nucl. Med. 1971, 12, N 4, p. 176—182.
9. Clouier R. et al. Calculating the radiation dose to an organ.—J. Nucl. med. 1977, 14, N 1, p. 53—55.
10. Conn J. et al. Primary aldosteronism. Photoscanning of tumor after administration of I^{131} -19-iodocholesterol.—Arch. Intern. Med. 1972, 129, N 3, p. 417—425.
11. Folch J., Less M., Stanley S. A simple method for the isolation and purification of total lipide from animal tissues.—J. Biol. Chem. 1967, 226, N 1, p. 497—509.
12. Kirshner A., Ice R., Beirwaltes W. Radiation dosimetry of I^{131} -19-iodocholesterol.—J. Nucl. Med. 1973, 14, N 9, p. 713—717.
13. Morita L. et al. Percent uptake of I^{131} radioactivity in the adrenal from radioiodinated cholesterol.—J. Clin. Endocrinol. 1972, 34, N 203, p. 36—43.
14. Steingart D. et al. Persistent or recurrent Cushings syndrome after «total» adrenalectomy.—Arch. Intern. Med. 1972, 130, N 3, p. 384—387.

Лаборатория радиологии Киевского института
эндокринологии и обмена веществ

Поступила в редакцию
17.V 1979 г.