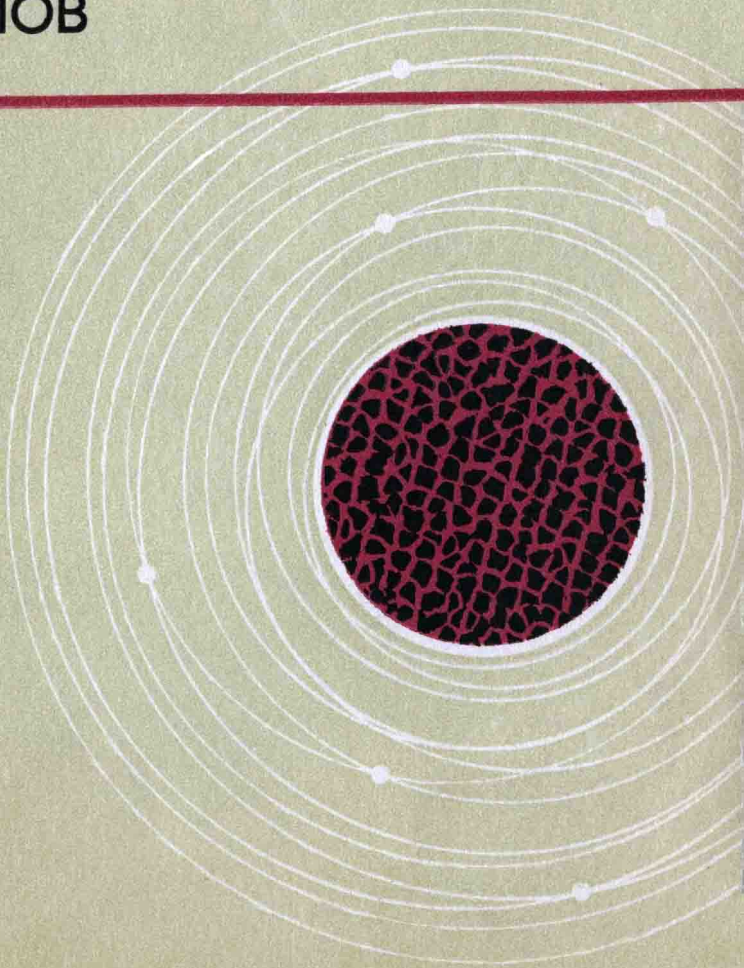
АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

ВЫП. 103 ТРУДЫ ИНСТИТУТА ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ 1976

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ

СВЕРДЛОВСК

УДК 612.015.3:621.85:591.471.3

«Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Сб. статей. Свердловск, 1976 (УНЦ АН СССР).

Большой вклад в изучение обмена радионуклидов в животном организме и их токсикологии внес Александр Зигфридович Кач (28.02.1913—16.02.1976). Им же, совместно с сотрудниками, впервые в мире у нас на Урале были применены в эксперименте комплексоны для выведения из организма токсических тяжелых металлов и излучателей.

Сборник является продолжением трудов лаборатории радиологии Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР, посвященных минеральному обмену в животном организме.

Несмотря на то, что вопросы обмена радиоактивных изотопов обсуждаются в литературе уже несколько лет, многие интимные стороны их метаболизма остаются невыясненными. Статьи сборника содержат новые оригинальные сведения о физико-химическом состоянии различных изотопов в крови, в органах, тканях и тканевых компонентах, о механизмах депонирования и выведения радиоизотопов. Большое внимание уделено механизму действия комплексонов. Часть статей посвящена клиническому приложению радиоизотопных исследований.

Сборник рассчитан на специалистов в области радиобиологии, медицинской радиологии, биохимии и минерального обмена.

Ответственные редакторы
А. И. Мезенцев, Н. М. Любашевский

К $\frac{21005\text{-}723}{055(02)7}$ 23-1976

© УНЦ АН СССР, 1976.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 541 : 546.641/611.018.5

В. В. КУПЦОВА, Н. В. МИКШЕВИЧ, Ю. В. ЕГОРОВ, Д. И. СЕМЕНОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КОМПЛЕКСОВ ИТТРИЯ-91 С БЕЛКАМИ

Изучение состояния микроколичеств радионуклидов в растворах таких биолигандов, как белки, интересно как с точки зрения их поведения в животном организме, так и с точки зрения химии комплексных соединений. В нейтральных средах на поведение легкогидролизующихся элементов, к которым относится и иттрий, большое влияние могут оказывать процессы, приводящие к образованию радиоколлоидов, поскольку трудно предположить, что в таких условиях микрокомпонент может существовать в ионном состоянии. В этом случае возможна лишь сравнительная оценка комплексообразующей способности биолигандов, что и явилось целью настоящей работы.

Для изучения комплексообразования мы использовали метод ионного обмена, основанный на том, что введение комплексообразующего агента в систему, содержащую катионит и микрокомпонент, приводит к снижению коэффициента распределения микрокомпонента между катионитом и раствором [1].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали сывороточный альбумин человека (лиофилизованный препарат для внутривенных инъекций с содержанием основного вещества более 95%), трипсин и пепсин (лиофилизованные препараты для медицинских целей) и гемоглобин (получаемый непосредственно перед опытом из крови лабораторных крыс). В качестве микрокомпонента был взят хлорид иттрия-91. Ионообменником служил катионит КУ-2×8 в Na^+-форме с размером зерен 0,2—0,4 *мм*. Предварительно установлено, что оптимальная навеска смолы 100 *мг*.

Готовили растворы белка разной концентрации на 0,15 М растворе хлористого натрия (х. ч.), вносили радионуклид (ко-

Взаимодействия Y^{91} с белками (метод Шуберта) в среде 0,15М NaCl

pH	Биолиганд	[L], *моль/л*	ε	ε_0 опытн.	ε_0 рассч.	$pK_н$	*n*
7,0—7,4	Гемоглобин	$0{,}525\cdot10^{-5}$ $1{,}05\cdot10^{-5}$ $2{,}10\cdot10^{-5}$ $3{,}15\cdot10^{-5}$ $5{,}25\cdot10^{-5}$	1,04 0,53 0,37 0,25 0,15	2,55	2,38	5,54±0,49	1,02±0,10
6,5—7,0	Трипсин	$1{,}67\cdot10^{-5}$ $2{,}50\cdot10^{-5}$ $3{,}33\cdot10^{-5}$ $4{,}17\cdot10^{-5}$	0,67 0,52 0,46 0,51	0,86	2,88	5,68±2,73	1,29±0,61
3,0—3,5	Трипсин	$1{,}25\cdot10^{-5}$ $1{,}67\cdot10^{-5}$ $4{,}17\cdot10^{-5}$ $8{,}33\cdot10^{-5}$	69,40 55,63 46,03 31,81	67,07	76,92	4,43±0,97	1,05±0,22
7,0—7,3	Сывороточный альбумин	$1{,}43\cdot10^{-6}$ $2{,}86\cdot10^{-6}$ $4{,}29\cdot10^{-6}$ $5{,}71\cdot10^{-6}$	0,59 0,23 0,12 0,19	3,43	1,00	9,52±1,66	1,64±0,30
5,8—6,7	Пепсин	$1{,}47\cdot10^{-5}$ $2{,}94\cdot10^{-5}$ $5{,}88\cdot10^{-5}$ $1{,}47\cdot10^{-4}$	2,87 2,38 1,76 1,23	2,92	3,03	5,78±0,81	1,43±0,19

нечная концентрация $\leqslant 10^{-9}$ М) и добавлением 0,1 М раствора NaOH устанавливали нужное значение pH (измеряли на pH-метре ЛПУ-01 со стеклянным электродом с точностью ±0,02 ед. pH). Отбирали кратные пробы растворов для измерения исходной активности и по 25 *мл* каждого раствора в трех повторностях вносили в пробирки с навесками катионита. Пробирки помещали во вращающуюся кассету на 3,5 *ч* (время, достаточное для установления эмпирического сорбционного равновесия), после чего снова отбирали пробы растворов для измерения активности. Радиометрирование осуществляли торцовым счетчиком БФЛ-25 (относительная ошибка измерений не превышала 3%). Перед радиометрированием пробы высушивали. По разности в активностях исходного и равновесного растворов определяли сорбционное отношение иттрия (ε) по формуле

$$\varepsilon = \frac{\overline{A}_{исх} - \overline{A}_р}{\overline{A}_р}, \qquad (1)$$

где $A_{исх}$ — активность исходного, а $A_р$ — активность равновесного растворов, *имп·мин/мл*. В таблице приведены средние значения величины сорбционного отношения с разбросом точек не более чем на 15% от среднего.

В условиях нашего эксперимента сорбцией белков мы пренебрегали, так как фотометрирование растворов в ультрафиолетовой области, а также их анализ по Лоури [2] до и после сорбции показали, что снижения концентрации белков не происходит.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как видно из таблицы, сорбционное отношение уменьшается с увеличением концентрации биолиганда в растворе, что свидетельствует о том, что в исследуемых системах протеины участвуют в процессе образования комплексов с иттрием-91. Это позволило провести сравнительную оценку устойчивости образующихся комплексов, используя метод, предложенный Шубертом [3] для определения констант устойчивости комплексных соединений при работе с микроколичествами веществ. Метод Шуберта основан на следующем: если ион металла берут в индикаторных концентрациях ($\leqslant 10^{-8}$ М), а лиганд — в концентрациях на 2—4 порядка больших и определения проводят при постоянной и высокой ионной силе, то в случае образования единственного нейтрального или отрицательно заряженного комплекса по схеме

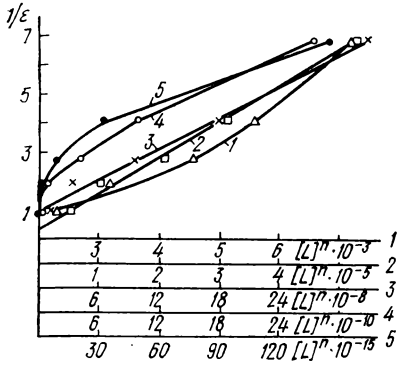
$$M^{z+} + nL^{x-} \rightleftarrows ML_n^{x-z} \qquad (2)$$

константа диссоциации образующегося соединения исходя из закона действующих масс определяется из уравнения

$$\lg\left[\frac{l_0}{l} - 1\right] = n\,[L] - \lg K_д, \qquad (3)$$

где l_0 — коэффициент распределения микрокомпонента при отсутствии лиганда; l — коэффициент распределения в присутствии лиганда; $K_д$ — константа диссоциации комплекса; n — число молекул лиганда, приходящихся на 1 атом металла; $[L]$ — равновесная концентрация лиганда. Предполагается, что комплекс ML_n одноядерный.

Известно, что иттрий в нейтральных растворах может существовать в виде гидролизованных ионов сложного состава, а в области микроконцентраций способен образовывать коллоиды [1, 4, 5]. Это обстоятельство, как нам кажется, позволяет использовать уравнение (3) только формально для расчета $K_н$ образующихся комплексов. (Поскольку опыты проводили в одинаковых условиях с постоянными навесками смолы и объемами раствора, в расчетах вместо l_0 и l использовали величины сорбционных отношений.)



Влияние концентрации гемоглобина на сорбционное отношение (ε) при распределении иттрия-91 между смолой и раствором.

1—5—n: *1* — 0,5; *2* — 1,0; *3* — 1,5; *4* — 2,0; *5* — 3,0.

Величины l_0 определяли экстраполяцией зависимости $^1/_l$ от $[L]$, полученной для различных концентраций лиганда, на нулевую концентрацию, что следует из уравнения (3):

$$1/l = \frac{[L]^n}{l_0 \cdot K_д} + 1/l_0. \qquad (4)$$

Поскольку условия существования образующихся комплексов и равновесной с ними доли микрокомпонента одинаковы (температура, pH, μ и т. д.), то величины $K_н$, определенные формальным расчетом по уравнению (3), можно использовать для сравнения. Таким образом, полученные величины $K_н$, представленные в таблице, позволяют написать следующий ряд устойчивости комплексных соединений микрокомпонента с исследуемыми белками: сывороточный альбумин > гемоглобин = трипсин = пепсин.

В таблице представлены также рассчитанные нами значения n, которые во всех случаях близки к единице. Кроме того, как показали зависимости $^1/_\varepsilon$ от $[L]$ (см. рисунок), для гемоглобина удовлетворительная линеаризация уравнения (4) получается при значениях $n = 1—1{,}5$, что можно было предполагать, учитывая стерический фактор при образовании комплекса, а также нахождение комплексообразователя в микроконцентрации.

Близость величин $K_н$ для гемоглобина, трипсина и пепсина может свидетельствовать об одинаковом характере взаимодействия иттрия с перечисленными белками, тогда как с альбумином комплексообразование протекает иначе. Следует отметить и то, что во всех нейтральных средах (за исключением трипсина) были получены близкие значения расчетных и экспериментальных величин l_0, что свидетельствует об идентичности существующих в опыте условий для микрокомпонента.

Помимо этого был проведен эксперимент с трипсином при pH ≈ 3, т. е. в условиях, когда микрокомпонент заведомо находится в ионной форме [5], о чем говорят также и высокие значения ε. В этом случае использование уравнения (3) для определения $K_н$ правомерно. Полученная величина $pK_н$ оказалась на порядок ниже, чем в нейтральном растворе, однако она достаточно высока для того, чтобы пренебречь возможностью образования комплекса при этом pH, как отмечено в работе [6]. В то же время это совпадает с данными, приведенными нами

в работе [7], где показано, что процесс образования комплекса с сывороточными белками идет начиная с pH≃3.

Таким образом, в области нейтральных pH иттрий-91 участвует в образовании комплексов с исследуемыми белками, но процесс осложняется коллоидообразованием. Исследованные белки (за исключением альбумина) образуют комплексы с микроколичествами иттрия-91 равной степени устойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Е. Старик. Основы радиохимии. Л., «Наука», 1969.
2. Дж. Бэйли. Методы химии белков. М. «Мир», 1965.
3. J. Schubert, E. Russel, L. Myers. J. Biol. Chem., 1950, **185**, 387.
4. P. Polansky. J. Bar. Coll. Czech. Chem. Comm., 1974, **39**, N 4, 1025.
5. P. Benes, J. Kucera. J. Inorg. Nucl. Chem., 1971, **33**, N 1, 103.
6. Э. М. Рагозина. Мед. радиология, 1972, **17**, № 11, 46.
7. Н. В. Микшевич, В. В. Купцова, Д. И. Семенов, Ю. В. Егоров, В. Д. Пузако. Радиохимия, 1974, **16**, № 4, 559.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 541.183 : 546.641

В. В. КУПЦОВА, Н. В. МИКШЕВИЧ

ИЗУЧЕНИЕ АДСОРБЦИИ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ИТТРИЯ-91 НА НИТРОЦЕЛЛЮЛОЗЕ

При изучении состояния микроколичеств радиоактивных элементов в биологических жидкостях наличие в исследуемом растворе загрязнений, а также взаимодействие микрокомпонента с поверхностью посуды могут привести к сдвигу равновесия, существующего между различными формами радионуклида. Поэтому представляло интерес изучить сорбцию микроколичеств иттрия-91 из водных растворов, содержащих и не содержащих белок, на нитроцеллюлозе, которая используется в качестве материала центрифужных пробирок.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использовали хлорид иттрия-91 без носителя ($\sim 10^{-9}$ М). Опыты проводили при постоянной ионной силе $\mu = 0{,}15$ (0,15 М NaCl). Все растворы готовили на бидистиллированной воде. Нужное pH устанавливали прибавлением по каплям кислоты (HCl) или щелочи (NaOH). Измерение pH производили на pH-метре ЛПУ-01 с точностью $\pm 0{,}02$ ед. Радиометрирование осуществляли торцевым счетчиком БФЛ-25 с точностью $\pm 3\%$.

Определяли количество иттрия, сорбированного на поверхности центрифужных пробирок из нитроцеллюлозы объемом 10 *мл*. Пробирки предварительно выдерживали в атмосфере с постоянной влажностью ($\sim 70\%$). Сорбцию проводили из водных растворов, содержащих и не содержащих сывороточный альбумин человека ($\sim 2 \cdot 10^{-5}$ М) для внутривенных инъекций с содержанием основного вещества $\geqslant 95\%$. Как показали предварительные опыты, время установления сорбционного эмпирического равновесия в системе составляло 1,5 *ч*.

Примерно к 100 *мл* 0,15 М NaCl, содержащего или не содержащего белок, прибавляли кислый ($pH \backsimeq 1$) раствор $Y^{91}Cl_3$,

объем доводили до 250 *мл* физиологическим раствором и устанавливали pH. На алюминиевые подложки отбирали пробы (0,5 *мл*) для измерения исходной активности, после чего исходный раствор заливали (5 *мл*) в центрифужные пробирки и помещали их во вращающуюся кассету на 3,5 *ч*. Затем отбирали пробы (0,5 *мл*) для определения активности равновесного раствора. Перед радиометрированием пробы высушивали. Количество адсорбированного на поверхности нитроцеллюлозы иттрия-91 определяли по формуле

$$S = \frac{\overline{A}_{\text{исх}} - \overline{A}_{\text{р}}}{\overline{A}_{\text{исх}}} \cdot 100,$$

где S — количество адсорбированного иттрия, %; $A_{\text{исх}}$ — активность исходного раствора; $A_{\text{р}}$ — активность равновесного раствора, *имп·мин/мл*.

Полученные данные являются средними величинами четырех-шести результатов с разбросом точек от среднего не более чем на 15%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучена адсорбция микроколичеств иттрия-91 на нитроцеллюлозе в зависимости от pH растворов (рис. 1). При отсутствии альбумина наблюдается сорбционный максимум в области pH≅3,5 (сорбция иттрия достигает ~40%), затем происходит спад и дальнейшее увеличение адсорбции, которая, начиная с pH≅6, становится постоянной и достигает 60—80%. В растворах, содержащих альбумин, при всех значениях pH адсорбция микрокомпонента на поверхности нитроцеллюлозы была подавлена, и лишь в области pH≅4 мы наблюдали заметное поглощение иттрия нитроцеллюлозой (до 15—20%).

Было также изучено влияние концентрации нейтрального электролита (NaCl) на адсорбцию иттрия нитроцеллюлозой при pH≅7 (рис. 2). Оказалось, что с увеличением концентрации NaCl доля сорбированного микрокомпонента незначительно снижается (рис. 3). В растворах, содержащих альбумин, влияния нейтрального электролита не обнаружено.

Результаты опытов по десорбции иттрия раствором, идентичным по составу с раствором, из которого проводили адсорбцию, показаны на рис. 4 (время десорбции 24 *ч*). При pH 6—9 раствор 0,15 M NaCl десорбирует около половины микрокомпонента, а раствор 0,1 NHCl — практически 100%. В кислой среде (pH≅3—4) в обоих случаях десорбция незначительна (10—20%). Изотерма сорбции (pH 7) линейна, что говорит о генриевском характере распределения иттрия-91, однако разброс точек значительный (рис. 5).

Приведенные результаты показывают, что значение pH растворов существенно влияет на поглощение радиоиттрия нитро-

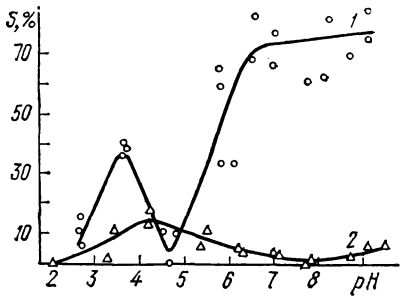
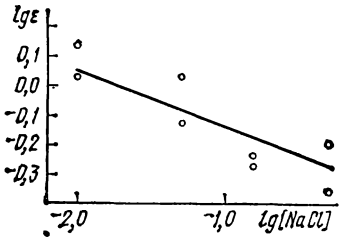


Рис. 1. Адсорбция иттрия-91 на нитроцеллюлозе в зависимости от pH раствора в отсутствие (*1*) и при наличии (*2*) альбумина ($Y^{91} \simeq 10^{-9}$ M; альбумин $\sim 2 \cdot 10^{-5}$ M; $\mu = 0{,}15$).

Рис. 2. Адсорбция иттрия-91 на нитроцеллюлозе в зависимости от концентраций NaCl ($Y^{91} \sim 10^{-9}$ M). $\varepsilon = \frac{\bar{A}_{исх} - \bar{A}_p}{\bar{A}_p}$, где ε — сорбционное отношение Y^{91}.



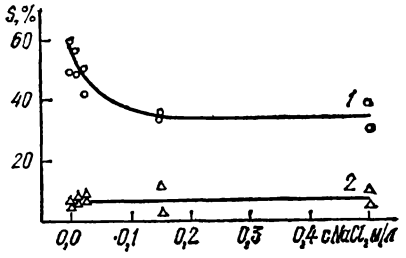
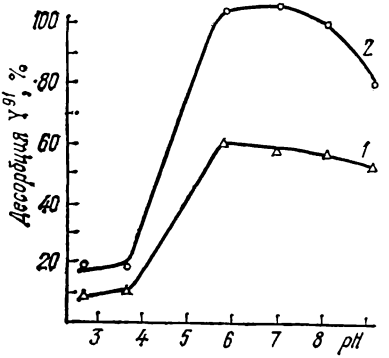


Рис. 3. Адсорбция иттрия-91 на нитроцеллюлозе в зависимости от концентрации NaCl в отсутствие (*1*) и при наличии (*2*) альбумина ($Y^{91} \sim 10$ M).

Рис. 4. Десорбция иттрия-91 в зависимости от pH адсорбции 0,15 M раствором NaCl (*1*) и 0,1 н раствором HCl (*2*).



целлюлозой. Трудно объяснить максимум поглощения при pH≤3,5 конкретным физико-химическим процессом, однако дальнейшее возрастание сорбции при увеличении pH связано, по-видимому, как со снижением концентрации ионов водорода, так и с гидролизом микрокомпонента [1—4].

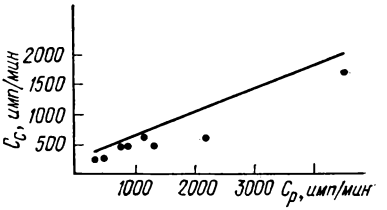


Рис. 5. Изотерма адсорбции иттрия-91 на нитроцеллюлозе (Y^{91} ~ $\sim 10^{-9}$ М; μ=0,15; pH≤7; t=22±±2° С).

Снижение сорбции в присутствии альбумина свидетельствует об участии этого биолиганда в образовании комплекса с микрокомпонентом, не сорбирующегося на поверхности нитроцеллюлозы [5]. Незначительный максимум при pH≤4 связан с сорбцией комплекса при этих условиях, так как изоэлектрическая точка альбумина лежит при pH 4,7—4,9 [6] и, следовательно, может протекать процесс сорбции комплекса на отрицательно заряженной поверхности нитроцеллюлозы [2, 7]. В более кислой среде комплекс не образуется, а адсорбции ионного иттрия [2] препятствует высокая концентрация ионов водорода. Поглощение иттрия-91 в нейтральной среде включает ионообменные процессы и протекает в основном на поверхности нитроцеллюлозы; об этом свидетельствует [1] обратимость сорбции (см. рис. 4), влияние индифферентного электролита (см. рис. 2, 3), а также малое время установления сорбционного равновесия.

Таким образом, на основании полученных данных можно считать, что в нейтральных средах механизм адсорбции микроколичеств радиоиттрия из 0,15 М растворов NaCl на нитроцеллюлозе сложен. По-видимому, иттрий сорбируется в виде сложных гидролизованных форм с участием ионообменных процессов. Введение в раствор сывороточного альбумина приводит к образованию комплекса с микрокомпонентом, практически не поглощающегося нитроцеллюлозой из нейтральных растворов.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Е. Старик. Основы радиохимии. Л., «Наука», 1969.
2. P. Benes, J. Kucera. J. Inorg. Nucl. Chem., 1971, **33**, N 1, 103.
3. P. Polansky. J. Bar. Coll. Czech. Chem. Comm., 1972, **37**, N 9, 3024.
4. P. Polansky. Там же, 1974, **39**, № 4, 1025.
5. Н. В. Микшевич, В. В. Купцова, Д. И. Семенов, Ю. В. Егоров, В. Д. Пузако. Радиохимия, 1974, **16**, № 4, 559.
6. В. Паули, Э. Валько. Коллоидная химия белковых веществ. М., ОНТИ, 1936.
7. S. M. Neale, R. U. Peters. Trans Faraday Soc., 1946, **42**, N 478.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 541 : 546.641/611.018.5

Н. В. МИКШЕВИЧ

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ИТТРИЯ-91 СЫВОРОТОЧНЫМИ БЕЛКАМИ В ОПЫТАХ IN VITRO МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ

Метод колоночной хроматографии с использованием сефадексов успешно применяется для изучения связывания различных радиоизотопов белками сыворотки крови [1—4]. В предыдущих работах [3, 4] изучали состояние микроколичеств Y^{91} в сыворотке крови и влияние марки используемого геля на определяемую данным методом долю радионуклида, связанного протеинами. В настоящей статье мы попытались выяснить в опытах in vitro, будет ли влиять концентрация микрокомпонента на его связывание сывороточными белками.

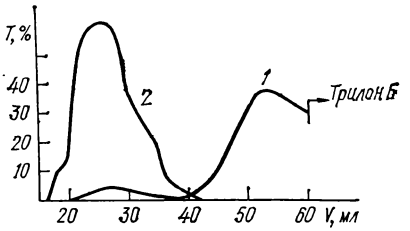
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили с нативной сывороткой, получаемой от белых лабораторных крыс Вистар, к постоянному объему которой (3,0 *мл*) добавляли несколько капель слабокислого (pH 2,5) раствора $Y^{91}Cl_3$ без носителя. Смесь тщательно перемешивали и инкубировали 5 *мин* при 36° С, после чего аликвоту (0,1 *мл*) наносили на колонку (1,2×50 *см*) с сефадексом *G*-100 и элюировали трис-HCl буфером (pH 7,2). Методика процесса хроматографии и установка описаны в [4]. Скорость элюирования 10 *мл/ч*. Контроль осуществляли по пробе исходного раствора, для чего 0,1 *мл* исходной сыворотки вносили в мерную колбу (50 *мл*), доводили до метки 0,1н HCl (чтобы предотвратить сорбцию Y^{91} стеклом) и радиометрированием аликвоты этого раствора определяли количество радионуклида, нанесенного на колонку с гелем. Баланс во всех опытах был не ниже 90%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлена характерная кривая вымывания радионуклида и протеинов с колонки с сефадексом. Наблюдается три пика Y^{91} на элюционной диаграмме: первый — совпадаю-

щий с объемами, в которых выходят сывороточные белки, и следовательно, соответствующий вымыванию комплекса микрокомпонента с протеинами; второй — совпадающий с объемом выхода, равным полному объему геля; третий — появляющийся при использовании в качестве элюента трилона Б [1—3].



Вымывание иттрия-91 (*1*) и протеинов сыворотки (*2*) с колонки, заполненной сефадексом G-100 (трис-HCl буфер, pH 7,2).

Коэффициент распределения (ε) радионуклида определяли как отношение количества, связанного с сывороточными белками, к равновесной с ними оставшейся доле, которую вычисляли по пробе исходного раствора.

Как показали результаты эксперимента, при изменении концентрации Y^{91} в изученных пределах достоверных различий в величинах коэффициентов распределений не наблюдается:

	Концентрация Y^{91}, *мккюри/мл*		
	10	5	2
Доля Y^{91}, связанного белками, %	5,35±1,50	4,87±4,69	4,71±3,48
Коэффициент распределения Y^{91} между белками и равновесным раствором	0,057±0,016	0,052±0,049	0,050±0,037

В условиях нашего эксперимента доля иттрия-91, связанного с белками, незначительна.

Постоянство коэффициента распределения микрокомпонента указывает на выполнение в системе закона Генри, когда

$$\varepsilon = \frac{x_c}{x_p} = \text{const.}$$

Это позволяет в данном случае рассматривать макромолекулы протеинов как сорбент по отношению к микрокомпоненту, т. е. иттрию-91.

Малые значения коэффициентов распределения заставляют предположить низкое сродство сорбата к сорбенту, а следовательно, невысокие константы устойчивости образующихся комплексов. Весьма вероятно, что это обусловлено условиями эксперимента, когда в системе либо не достигается равновесие, либо не создаются благоприятные условия для образования комплекса, что вполне может быть обусловлено склонностью микрокомпонента к гидролизу. В то же время эта часть радионуклида прочно фиксирована белками, так как изменение емко-

сти сефадекса при использовании гелей других марок не влияет на связывание Y^{91} белками, как это показано для опытов in vivo [4]. Следует отметить, что ранее полученные [3, 4] величины связывания микрокомпонента сывороточными протеинами при медленном внутривенном введении ~100 *мккюри* излучателя близки к приведенным. Это еще раз свидетельствует о влиянии условий опыта на комплексование иттрия с белками.

Следует остановиться на природе второго и третьего пиков радионуклида на элюционной диаграмме. В работах [1—3] отмечается, что второй пик обусловлен выходом комплексов с низкомолекулярными фракциями сыворотки, а именно: с аминокислотами и полипептидами. Поскольку ранее [3] нами показано, что промывание трис-буфером (pH 7,2) колонки с сефадексом G-200, на которую нанесен 0,1 *мл* раствора $Y^{91}Cl_3$, дает два пика радионуклида (первый — в полном объеме геля, второй — при использовании для элюирования трилона Б), то остается предположить, что Y^{91} либо находится в виде отрицательно заряженного коллоида, размер частиц которого меньше нижнего предела фракционирования для данного сефадекса, либо используемый буфер способен образовывать комплекс с иттрием [4]. Причем первое предположение весьма вероятно, так как в литературе имеются сведения о нахождении микроколичеств иттрия в нейтральных растворах в виде отрицательно заряженных радиоколлоидных форм [5]. Что же касается комплексов с низкомолекулярными составляющими сыворотки, то, учитывая данные Э. М. Рагозиной [6], показавшей, что константы устойчивости комплексов катионов металлов и в частности РЗЭ с белками выше, чем с их структурными составляющими, наиболее вероятной формой нахождения радионуклида, вымываемого с колонки в полном ее объеме, остается отрицательно заряженная радиоколлоидная. Таким образом, помимо комплексной формы Y^{91} с низкомолекулярными фракциями сыворотки возможно существование его в виде комплекса с трис-буфером и радиоколлоида. Причем эти формы, по-видимому, должны иметь отрицательный заряд.

Третий пик радиоиттрия, появляющийся при использовании в качестве элюента трилона Б, может быть обусловлен вымыванием Y^{91}, сорбированного сефадексом. Это либо нейтральные, либо положительно заряженные формы, которыми могут быть как комплексы с низкомолекулярными составляющими, так и радиоколлоиды [5]. Об этом свидетельствует тот факт, что радионуклид может быть вымыт и большими объемами воды, а также то обстоятельство, что при использовании трилона наблюдали достаточно размытый пик, что говорит о необратимости процесса сорбции, т. е. о растворении коллоидных частиц [7]. Вряд ли можно согласиться с авторами работы [1], считающими, что трилон Б снимает с сефадекса сорбированный иттрий, находящийся в ионной форме, и приводящими в качестве дока-

зательства тот факт, что доля металла увеличивается при снижении pH элюирующего раствора, поскольку это равным образом приводит и к увеличению содержания положительно заряженных радиоколлоидных форм, и лишь начиная с pH 3 в растворе присутствуют истинные ионные формы микрокомпонента [5].

Таким образом, в результате изучения взаимодействия микроколичества иттрия-91 с сывороткой крови методом колоночной гель-хроматографии на сефадексах показано, что лишь незначительная доля радионуклида связывается достаточно прочно белками сыворотки и элюируется с колонки вместе с ними. Природа двух других пиков микрокомпонента не может быть однозначно определена и объяснена лишь вымыванием его комплексов с низкомолекулярными составляющими сыворотки и доли, сорбированной сефадексом и находящейся в ионном состоянии. Не менее вероятно участие в формировании этих пиков радиоколлоидных форм иттрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. L. Ekman, E. Valmet, B. Aberg. Intern. Appl. Radiat. Isotopes., 1961, **12**, N 1—2, 32.
2. A. Seidel, M. Vladar, V. Volf. Strahlentherapie, 1970, **140**, N 6, 717.
3. Н. В. Микшевич, Е. И. Сухачева. Радиобиология, 1973, **13**, № 3, 466.
4. Н. В. Микшевич, Н. А. Лоскутова, В. В. Купцова. Применение радиоактивных изотопов в диагностике и лечении. Свердловск, 1973, 31 (Свердл. гос. мед. ин-т).
5. P. Polansky. J. Bar. Coll. Czech. Chem. Comm., 1974, **39**, N 4, 1025.
6. Э. М. Рагозина. Медицинская радиология, 1972, **17**, № 11, 46.
7. И. А. Скульский. Формы элементов и радионуклидов в морской воде. М., «Наука», 1974, 5.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 541 : 546.641

В. В. КУПЦОВА

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ИТТРИЯ-91 С ГЕПАРИНОМ МЕТОДОМ ИОННОГО ОБМЕНА

Эффективный антикоагулянт крови [1] гепарин часто используется при радиобиологических экспериментах, в том числе и при изучении состояния различных элементов в биологических жидкостях и тканях. В литературе имеются сведения о возможности образования соединения между иттрием и гепарином [2]; в ряде случаев это может привести к сдвигу равновесия, существующего между различными формами металла, особенно при работе с микроколичествами радиоактивных изотопов. Поэтому мы попытались, используя метод ионного обмена, определить возможность образования соединения иттрия-91 с гепарином в условиях, близких к условиям радиобиологического эксперимента.

В работе мы использовали материалы и методику, аналогичные описанным в статье настоящего сборника (стр. 3—7). Гепарин брали в количестве 100—4000 ед. активности (100 *мл*), т. е. значительно больше обычно используемого в работе с лабораторными животными (белые крысы Вистар стадного разведения).

Определяли коэффициент распределения Y^{91} между катионитом и равновесным раствором по формуле

$$l = \frac{\overline{A}_{\text{исх}} - \overline{A}_{\text{р}}}{\overline{A}_{\text{р}}},$$

где l — коэффициент распределения;
$A_{\text{исх}}$ — β-активность исходного раствора;
$A_{\text{р}}$ — β-активность равновесного раствора.

Влияние количества добавленного гепарина на коэффициент распределения Y^{91} между смолой КУ-2×8 и равновесным рас-

твором (концентрация $Y^{91} \simeq 10^{-9}$ М; ионная сила раствора 0,15; КУ-2×8 — 100 *мг*; время сорбции 3,5 *ч*, pH 6,5—6,6) следующее:

Концентрация гепарина, ед. активности/100 *мл*	*l*
0	3,70
100	5,67
500	5,46
1000	3,04
4000	5,47

Увеличение концентрации гепарина от 100 до 4000 ед. активности/100 *мл* не приводит к изменению величины коэффициента распределения радиоизотопа между смолой и равновесным раствором, что равнозначно отсутствию эффекта образования комплекса. Поскольку в работе использовали количества гепарина, превышающие обычные рабочие концентрации, можно на основании полученных данных считать, что этот антикоагулянт не нарушает равновесия между различными формами микроколичеств иттрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гепарин (физиология, фармакология, биохимия и клиническое применение). Под ред. А. А. Маркосяна. Л., «Наука», 1969.
2. L. Ekman, E. Valmot, B. Aberg. Intern. J. Appl. Radiat. Isotopes, 1961, 12, N 1—2, 32.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Н. М. ЛЮБАШЕВСКИЙ, В. И. СТАРИЧЕНКО

АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СРАВНИТЕЛЬНОЙ РОЛИ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В НАКОПЛЕНИИ ОСТЕОТРОПНЫХ РАДИОИЗОТОПОВ СКЕЛЕТОМ

Депонирование минеральных остеотропных элементов в скелете — процесс, в осуществлении которого участвуют как энергетически «оплачиваемые» ферментативно-клеточные реакции, так и физико-химические, «пассивные», протекающие без затрат энергии (осмос, диффузия, ионный обмен и т. д.). Исследователи подчеркивают роль физико-химического состояния (ионизированного, коллоидного, связи в комплекс с белками и низкомолекулярными биолигандами) излучателей в крови, диффузионных процессов через сосудистую стенку, через нативные поверхности костной ткани и в системе каналикул, особенностей биохимической структуры, сорбционной способности и величины площади контактирующих с кровеносными сосудами обменных поверхностей кости, морфологии и протяженности системы каналикул и костных телец, соосаждения и кристаллизации [1—7]. Придается также большое значение виду, полу, возрасту, уровню обмена веществ, роли нервной системы в распределении изотопа в скелете [8—11]. Известны эндокринные влияния на обмен некоторых остеотропных изотопов [12].

Данное исследование посвящено сравнительному изучению роли таких физико-химических факторов, как транспорт кровью и химическое сродство скелетных структур к излучателю, в начальной сорбции радиоизотопов [1]. Распределение и локализация в скелете инкорпорированных в животном организме радиоактивных веществ изучены с помощью авто- и гистоавторадиографии.

[1] Под сорбцией, сорбционной способностью подразумевается мера суммарного кумулирования радиоизотопа в кости; термин не подразумевает конкретного физико-химического механизма процесса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования вели на 38 белых лабораторных крысах-самцах Вистар стадного разведения весом 340±15 *г* (взрослые животные) и 88±3 *г* (молодые), на 9 кошках весом 2100±120 *г* (взрослые животные) и 1240±110 *г* (молодые). Сопоставляли сорбционную способность зрелой и формирующейся спонгиозной и кортикальной костной ткани in vivo и in vitro. Изучали различия в их кровоснабжении.

В опытах использованы радиоизотопы элементов различных групп периодической системы: 1 группа — цезий-137; 2 группа — кальций-45, стронций-90, цинк-65, кадмий-115м; 3 группа — иттрий-91; 4 группа — углерод-14, цирконий-95; 5 группа — фосфор-32; 6 группа — сера-35, хром-51; 7 группа — хлор-36, йод-131; 8 группа — железо-59, рутений-106. Они представлены в виде катионов и анионов различной валентности, коллоидов и хелатных комплексов, органических и неорганических соединений.

Излучатели вводили в v. dorsalis penis или бедренную вену. Животных забивали через час после инъекции. Из бедренной и большеберцовой костей конечностей готовили продольные шлифы, которые фиксировали, обезжиривали и высушивали в сменяющихся порциях 96% этанола и этанол-эфира. Контактную авторадиографию проводили на фотопластинках для ядерных исследований типа МФ, МН, МК. Экспозиция варьировала от нескольких часов до 2,5 месяцев в зависимости от характера и количества введенного радионуклида и применяемого типа фотографического материала (~24 *ч* экспозиции при радиоактивности 1000 *имп/мин·см*^{2}). Параллельно ставили опыты in vitro с использованием кальция-45. Шлифы находились в растворе излучателя 30 *мин* и 24 *ч*, затем подвергались авторадиографии.

Методика авторадиографии использована также для выяснения распределения кровеносных сосудов в различных участках кости. Фосфор-32, хром-51, железо-59 вводили в состав эритроцитов, которые, поступив в кровь, становились показателями кровенаполнения изучаемых зон. Радиоактивный белок (альбумин-йод-131), введенный внутривенно, равномерно метил плазму крови и также служил показателем кровенаполнения.

Для получения меченых эритроцитов радиоизотопы фосфора и хрома добавляли in vitro в кровь, стабилизированную гепарином (0,1 : 10 *мл*), которую на 2 *ч* помещали в термостат при 37° С. После этого проводили многократное декантирование до тех пор, пока активность супернатанта не становилась ничтожно малой (<0,1%) по сравнению с активностью осадка, состоящего из эритроцитов.

Раствор радиожелеза вводили крысам внутривенно, через двое суток получали меченые эритроциты из крови. В этом случае железо включалось в гемоглобин формирующихся эритроцитов. Разбавляя осадок эритроцитов физиологическим рас-

твором в соотношении 1 : 1, получали рабочую эритроцитарную взвесь. Через 10—30 *мин* после внутривенного введения взвеси эритроцитов животное умерщвляли введением 5 *мл* эфира в грудную полость.

Некоторые особенности кровоснабжения кости более четко выявляются на авторадиограммах, полученных на материале, взятом через 1 и 5 *сек* после внутриаортальной инъекции крысам взвеси меченых железом-59 эритроцитов с немедленным замораживанием задней половины тела жидким азотом. В отдельных опытах по этой методике вводили кальций-45.

Объективную количественную оценку плотности затенения фотоизображения производили с помощью фотометрии пластинок на приборе МФ-2. Щель микрофотометра устанавливали в двух положениях: а) по ширине, равной наименьшей ширине тени сорбирующей поверхности, например, периостальной (приблизительно 0,1 *мм* у крысы); б) по ширине, равной диаметру средней ячеи зрелой спонгиозной кости (0,18 *мм* у крысы; 0,47 *мм* у кошки). Плотность авторадиограмм различных участков скелета удобно выражать в сравнении, например, с плотностью авторадиограмм гаверсова канала бедра и изображать знаком умножения перед цифрой.

Сравнение сорбционной способности зрелых и формирующихся (из зоны роста) костных балок производили в опытах in vitro. В отдельных экспериментах ширина зоны роста в бедре и большеберцовой кости крыс 1,2 *мм* определена на основании гистологического анализа, прижизненного окрашивания ализариновым красным, тетрациклином и отложения радиоактивных остеотропов. Животным этой серии прижизненно вводили 0,3 *мл* гепарина. После умерщвления их кости распиливали вдоль и делали выпилы из зоны роста и зоны зрелой спонгиозной кости (т. е. ниже зоны роста в метафизе на 3 *мм*). Полученный порошок состоял из костных балок и тканей костного мозга. Навески по 50 *мг* фрагментов костных балок, отмытых от костного мозга, заливали 5 *мл* раствора кальция-45. Аликвотные пробы по 0,1 *мл* отбирали соответственно через 20 *мин*, 1 *ч* 20 *мин*, и 24 *ч*. Перед отбором проб пробирки со взвесью порошка центрифугировали, чтобы полностью исключить возможность попадания частиц кости в отбираемую пробу. Для равномерного распределения по подложке пробы разбавляли водой и высушивали под кварцевой лампой. Счет радиоактивности проб производили на установке УМФ счетчиком ПП-16.

Для определения соотношения костного мозга и костной ткани (P'/P'') в различных участках кости приготовляли шлифы бедра и большеберцовой кости крыс и зарисовывали под микроскопом при помощи рисовального аппарата РА-4. По рисункам определяли общую длину всех балок шлифа или периметр (p), площадь всех ячей (S), площадь кортикальной кости (S'). Зная высоту шлифа (h), удельный вес костного мозга ($\rho' = 0{,}05\ г/см^3$),

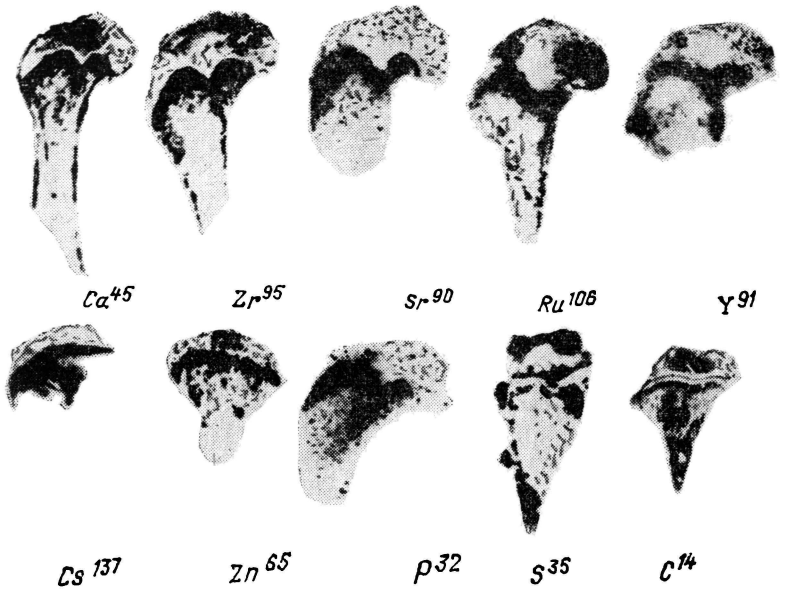


Рис. 1. Авторадиографическая картина распределения радиоизотопов в трубчатых костях крыс.

удельный вес кортикальной кости ($\rho''=\rho'''=1{,}80$ *г/см*^{3}) и полагая, что высота балок равна высоте шлифа и все они располагаются перпендикулярно поверхности спила, получали: поверхность всех балок, а следовательно, и ячей равна $\sigma=ph$. В этом случае объем ячей $V=Sh$; вес кортикальной кости $P'''=S'\rho'''h$; вес костного мозга в шлифе $P'=V\rho'$; вес спонгиозной ткани в шлифе $P''=P-(P'''+P')$, где P — вес всего шлифа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На автограммах костей крыс, получивших изотопы прижизненно, характер распределения радиоактивного материала сходен (рис. 1). Плотность потемнения фотоэмульсии значительно выше в области ростковой зоны и на естественных поверхностях кости (периостальной, эндостальной, гаверсовых и фолькмановских каналов). Можно различать сорбционную способность макроучастков нативных поверхностей площадью свыше 3 *мм*^{2} и микролокусов, соизмеримых по размерам с участками ремоделирования (от 20 до 300 *мк*). Макроучастки обычно отражают среднюю картину накопления на данной поверхности, кровоснабжающейся одной группой кровеносных капилляров, например, в периосте или эндосте. Количество интенсивно затененных

участков («горячих пятен») на различных поверхностях отличается, но не зависит от изотопа. В компактной кости вне сосудистых каналов интенсивность затенения в 17 раз ниже, чем на поверхностях. Различия автографической картины при использовании разных изотопов могут быть объяснены характером излучения, энергией β-частиц и γ-радиации (наблюдается значительная размытость изображений локусов концентраций γ-излучателей и высоко энергетичных β-излучателей по сравнению с полученными от излучателей частиц низкой энергии, например кальция-45, углерода-14), большим или меньшим сродством к костному мозгу (например, глицин-С-14 показывает большую степень потемнения в области костного мозга).

Общие черты в распределении излучателей, очевидно, могут зависеть от одинаковых путей доставки и одинаковых механизмов сорбции. Действительно, меченые материалы, которые не выходят за пределы кровеносного русла (альбумин-йод-131, эритроциты, меченые по радиофосфору, радиожелезу и радиохрому), распределяются в тех же участках, что и радиоизотопы, связываемые костной тканью (рис. 2). Обращает на себя внимание неравномерность кровоснабжения костей. По интенсивности кровенаполнения можно выделить несколько зон скелета: 1) субэпифизарная зона — тонкая (×3), неравномерной толщины, местами пятнистая, полоса затенения шириной 0,1—0,5 *мм*, к которой непосредственно примыкает более размытая; 2) зона кровоснабжения полутора-двух рядов формирующихся костных ячей (×2) (при гистологическом исследовании костные ячеи здесь мелки, формирующиеся трабекулы нередко включают фрагменты хряща или отдельные хрящевые клетки, наблюдается недообызвествленность некоторых костных балок); 3) субхондроартральная (×2) — весьма неравномерная, пятнистая, иногда даже пунктирная полоса затенения под суставным хрящом; 4) неравномерное затенение периостальной и эндостальной областей с отдельными более темными пятнами диаметром 0,2—0,7 *мм* (×0,5—1,5); 5) слабовыраженное пятнистое затенение компактной кости; 6) интенсивное затенение костного мозга (×2).

Рис. 2. Авторадиограмма бедренной кости крысы, которой прижизненно введен в кровоток альбумин-йод-131.

В черепе повышенное кровоснабжение в виде узких извитых полосок, соответствующих швам (×1,5). В челюсти более выражено кровенаполнение в корневых влагалищах зубов в виде

пятен затенения (×2), сплошное интенсивное затенение в зоне пульпы (×3). Кровоснабжение перихондрия гистоавторадиографически близко к кровоснабжению периоста. В позвоночнике и других костях наблюдается близкая к описанной гистоавторадиографическая картина кровенаполнения.

Сродство различных костных структур к радиоизотопам можно оценить на основании изучения авторадиограмм костной ткани, кумулировавшей активность в опытах in vitro. Поскольку в пробирке все поверхности костного шлифа находятся в одинаковых условиях доставки, то избирательное накопление в этом случае означает повышенное сродство к изотопу. В таких условиях распределение кальция-45 у старых и молодых кошек при кратковременной и длительной экспозиции в радиоактивном растворе оказалось различным (рис. 3). У молодых растущих животных при 30-минутной экспозиции концентрация радио-

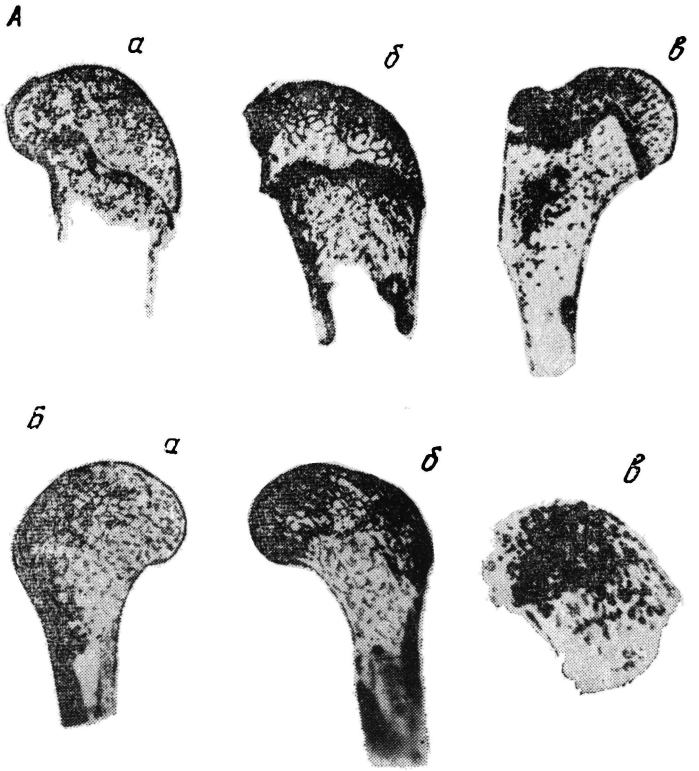


Рис. 3. Авторадиографическая картина распределения радиокальция в бедренных костях кошек.

А — молодое животное, *Б* — взрослое животное; *а*, *б* — in vitro: *а* — 30 *мин*, *б* — 24 *ч*; *в* — in vivo, 1 *ч*.

активного материала в зоне роста выражена менее, чем в условиях in vivo. В частности, радиоактивность меньше в эпифизарной хрящевой пластинке. При 24-часовой экспозиции концентрация радиокальция в хрящевой пластинке резко увеличивается и общая картина локализации изотопа становится очень похожей на распределение in vivo (в зоне роста). У взрослых животных кумулирование активности в опытах in vivo и in vitro близко. На границе метафиза и эпифиза визуально отмечается большая степень плотности затенения.

У крыс распределение радиокальция в ростковой зоне in vivo одинаково как у молодых, так и у старых животных (эпифизарная хрящевая пластинка сохраняется у них всю жизнь). Различия в отложении изотопа в кости in vivo и in vitro выражены значительно резче, чем у кошек: in vitro радиоизотоп откладывается почти равномерно.

На эндостальной поверхности диафиза in vitro откладывается значительно большее количество изотопа, чем на периостальной (соответственно $\times 1{,}4$ и 0,6), в противоположность данным авторадиографии in vivo (соответственно $\times 0{,}6$ и 1,5). (Для сравнения: кровоснабжение эндоста $\times 0{,}6$, периостальной области $\times 1{,}3$.)

Радиометрически показано, что накопление на единицу веса и площади кальция-45 «молодыми» трабекулами из зоны роста и «зрелыми» одинаково.

Степень необратимого связывания остеотропных продуктов, в частности кальция-45, иттрия-91 и стронция-90, попавших в кость, отчетливо демонстрируется на авторадиограммах, проведенных на материале крыс, забитых через 1—4 месяца после введения излучателя. Как и в других работах [13, 14], на авторадиограммах различаются две зоны интенсивного затемнения: субэпифизарная и расположенная в метафизе более широкая полоса. В нашем опыте с использованием иттрия-91 за 4 месяца отложилась субэпифизарная зона шириной 0,2 *мм* ($\times 1{,}9$) и метафизарная на расстоянии 2,1 *мм* под нею, шириной 1,1 *мм* ($\times 2{,}4$); периостальное затенение «старой» (диафиз между двумя зонами затенения) кости выше эндостального, в «новой» (метафиз между эпифизарной и диафизарной зонами затемнения) — эта разница стирается, общее накопление радиоизотопов в «новой» кости в 10 раз меньше. Механизм перемещения и расширение полосы отложившегося в ростковой зоне радиоактивного материала во времени достаточно очевидны: при эндохондральном окостенении хрящевой пластинки эпифиз «поднимается» над бывшей зоной роста, некоторое количество излучателя попадает и в новую ростковую зону («перекачивается» через кровь из других тканей организма) — отсюда «расплывание». Очевидно, что перестройка костных балок бывшей зоны роста (исчезли включения хрящевой ткани, изменилась форма и увеличились размеры трабекулярно-костных ячей) не может вывести весь изо-

топ, но приводит все же к некоторому усреднению концентрации его в различных участках скелета [8].

Полученные данные дают определенную информацию о вкладе некоторых физико-химических процессов в отложение излучателей в скелет. Нативные костные поверхности структурно и химически устроены таким образом, что обладают высокой сорбционной способностью к большому числу эндогенных и инородных продуктов [9]. Однако реализоваться это свойство кости может только при непосредственном контакте, т. е. после проникновения соответствующего вещества через эндотелиальную стенку капилляров. Продукты, для которых она непроницаема, не оседают в кости, хотя in vitro могут обладать высоким аффинитетом (например, коллоидный иттрий кумулируется костью в пробирке так же, как и невесомый [15]).

Возможности доставки изотопов кровью в различных участках скелета неодинаковы. Можно полагать, что объемная скорость кровотока пропорциональна густоте капиллярной сети, которую определяют гистоавторадиографически. Поскольку сорбционная способность костных поверхностей на порядок величин превышает способность к притоку через капиллярную стенку [16], доставка кровотоком определяет накопление. Так, сорбционная способность эндостальной поверхности выше, чем периостальной, но кровоснабжение периоста больше, и на периостальной поверхности кумулируется большее количество изотопа. Очевидно, физико-химическое сродство к костному материалу определяет другой важный параметр обмена радиоизотопа — длительность и полноту его задержки в скелете.

Некоторые особенности автограмм, полученных от молодых и взрослых животных изученных видов, требуют особого объяснения. Видимо, отсутствие полосы затенения, соответствующей зоне роста на автограммах костей крыс, экспонированных в растворе радиокальция в течение длительного времени, может быть связано с низкой кальцификацией ростковой пластинки.

Важным фактором, обусловливающим визуальный эффект повышенного накопления в области зоны роста, является малый размер костных ячей. Это хорошо видно при сравнении результатов фотометрии с узкой и широкой щелью: при узкощелевой фотометрии различия в ростковой зоне и в зоне зрелой трабекулярной кости незначительны, при широкощелевой — различия в полтора раза (в площадь щели попадает несколько изображений ячей зоны роста по сравнению с одной зрелой).

Данный феномен подтверждается также другими опытами. Радиоактивность костного материала, взятого in vivo из зоны роста и из участков зрелой кости, отличается незначительно. В зоне роста отношение веса балок к весу костного мозга 1,7, а в зоне зрелых балок 0,6, т. е. в зоне роста количество костной губчатой ткани и, соответственно, суммарная нативная поверхность, определяющая накопление изотопа [3, 13], в три раза

больше. Выраженное затенение в области зоны роста, таким образом, объясняется не только повышенным транспортом (несомненно играющим ведущую роль), химическим сродством, но и структурными особенностями (увеличенным количеством нативных поверхностей на единицу площади).

Выводы

1. Метод сравнительной авторадиографии излучателей, введенных in vivo и in vitro, применим для изучения некоторых существенных сторон механизма кумулирования излучателей в скелете.

2. Сорбционная способность микролокусов нативных поверхностей отличается на порядки величин, а макроучастков нативных поверхностей разных отделов скелета может отличаться в два-три раза.

3. Ведущую роль в накоплении радиоактивных веществ на нативных поверхностях скелета играет доставка кровотоком, которая различна в разных участках. Разработана классификация поверхностей по их кровоснабжению.

4. Относительно высокая плотность почернения авторадиограмм костей в зонах роста зависит: а) от повышенного кровоснабжения, б) от умеренно увеличенной сорбционной способности поверхностных структур обызвествляющегося эпифизарного хряща, в) от бóльшего числа сорбирующих поверхностей при малом размере ячей, приходящихся на единицу площади авторадиограммы.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. McLean, A. M. Budy. Radiation, Isotopes and Bone. N. Y.— London, 1964.
2. В. Г. Елисеев. Соединительная ткань. М., Медгиз, 1959.
3. Н. М. Любашевский. II Всесоюзный биохимический съезд, 13 секция. Ташкент, 1969, 38.
4. И. П. Трегубенко. Бюлл. Урал. отд. МОИП, 1958, вып. 1, 3.
5. G. H. Bourne. Biochemistry and Physiology Bone. N. Y., Academic Press, 1956.
6. Д. А. Попов, А. Н. Михайлова, Л. Н. Басалаева. Радиохимия, 1971, 13, № 1, 151.
7. У. Ньюман, М. Ньюман. Минеральный обмен кости. М., 1962.
8. Л. Н. Булдаков, Ю. И. Москалев. Проблема распределения и экспериментальной оценки допустимых уровней церия-137, стронция-90, рубидия-106. М., 1968.
9. Д. И. Семенов. Комплексоны (синтез, свойства, применение в биологии и медицине). Свердловск, 1958, 75.
10. И. А. Лихтарев. Радиобиологический эксперимент и человек. М., Атомиздат, 1970, 106.
11. Б. И. Кудрицкий. Там же, 38.
12. Н. М. Любашевский, М. К. Окунева. Статья в настоящем сборнике.

13. J. H. Marshall, E. L. Hoyd, J. Rundo, J. Liniecki, G. Marotti, Ch. W. Ways, H. A. Sissons, W. S. Snyder. Alkaline earth metabolism in adult man Health physics, 1973, **24**, N 2, 129.
14. Е. В. Эрлексова. Распределение некоторых радиоактивных элементов в организме животных. М., Медгиз, 1960.
15. Н. М. Любашевский, Л. А. Лисовская. Вопросы радиационной медицины. Свердловск, 1970, 11.
16. Н. М. Любашевский, Е. Я. Гидалевич. Первая радиобиологическая конференция социалистических стран. Чехословакия, Шпиндлерув Млын-Бедржихов, 1974, 274.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Е. И. СУХАЧЕВА, С. С. ЛЕКОХМАХЕР,
Н. М. ЛЮБАШЕВСКИЙ

ОЦЕНКА ВКЛАДА КРОВИ И НЕКОТОРЫХ ТКАНЕЙ В РАСПАД ХЕЛАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ИТТРИЯ-91 В ОРГАНИЗМЕ

Изучение взаимоотношений комплексных соединений металлов с внутренней средой организма представляет значительный интерес как с точки зрения определения перспективы синтеза новых комплексообразующих препаратов, так и для выяснения некоторых особенностей обмена поливалентных металлов. Исследованиями, проведенными в нашей лаборатории [1—3], показана зависимость величины распада комплексов ЭДТА с некоторыми металлами от их устойчивости. Такая же зависимость была установлена и для комплексов ряда металлов с ДТПА, ЦГТА, ДДТЭ и НТА [4, 5]. Выяснено, что высокоустойчивые хелатные соединения иттрий-ДПТА и иттрий-ЦГТА практически не разрушаются в организме крыс; величина выведения их через почки за первые сутки соответствует суммарному выделению самих комплексонов. Менее устойчивые комплексы иттрий-ЭДТА и иттрий-ДДТЭ распадаются частично, а иттрий-НТА полностью [6]. В опытах [7] показана зависимость степени распада комплексных соединений от их устойчивости при взаимодействии с белками сыворотки крови. Как следует из этих данных, хелатные соединения с $K_{уст}$ ниже 10^{15} распадаются почти полностью уже при инкубировании с сывороткой крови. Таким образом, степень устойчивости комплексных соединений определяет не только уровень их распада в организме, но и, по-видимому, долю участия отдельных тканей и органов в этом процессе.

Как известно, при поступлении в организм комплексы металлов вступают в сложные взаимодействия с различными факторами внутренней среды: клеточными структурами, биокомплексонами, свободными металлами, капиллярными стенками, тканевыми структурами. Однако удельный вклад каждого из этих

факторов в разрушение комплексов разной устойчивости изучен недостаточно.

Цель нашего исследования — изучение роли некоторых компонентов крови и отдельных тканей в расщеплении хелатных соединений иттрия-91 в условиях целостного организма и на модельных системах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Комплексные соединения иттрия, меченые по радиоактивному изотопу, в дозе 10 *мкгмолей* на крысу (при соотношении металла и комплексона 1 : 1,1; pH 7,4) инъецировали внутривенно самцам или самкам крыс линии Вистар (средний вес соответственно 259±31 и 247±3,4 *г*). Животных содержали в обменных клетках, мочу и кал собирали раздельно, в отдельных вариантах опытов мочу получали катетеризацией мочевого пузыря. Крыс забивали на разные сроки после инъекции комплексов под эфирным наркозом.

Из нижней полой вены шприцем отбирали по 4—5 *мл* крови, наносили 0,2—0,3 *мл* на стандартные тарелочки, а оставшуюся кровь центрифугировали при 3000 *об/мин* в течение 15 *мин*. Аликвотные объемы сыворотки отбирали для определения концентрации радиоизотопа, образцы по 0,6 *мл* вносили на колонку для гельфильтрации. Содержание излучателя в эритроцитах вычисляли по разнице активности цельной крови и сыворотки. Величину накопления иттрия-91 в других тканях устанавливали путем пересчета радиоактивности проб на весь орган.

Физико-химическое состояние иттрия в сыворотке, гомогенатах печени и почек изучали методом гельфильтрации на колонках с сефадексом Г-75 (размером 1,2×53,0 *см*) и в моче на сефадексе Г-15 (колонка 1,0×34,0 *см*). Все колонки предварительно калибровали по раствору комплекса, меченого по углероду-14 в положении С-2 или радиоактивному иттрию. Как показали измерения радиоактивности образцов элюата, все исследуемые комплексы выделялись в общем объеме колонки вслед за выделением белка. Элюирование образцов сыворотки, водорастворимой части гомогенатов печени и почек проводили трис-буфером (pH 7,4), а мочи — 0,9%-ным раствором хлорида натрия со скоростью протекания 16 *мл/ч*. Оптическую плотность фракций элюата определяли на спектрофотометре СФД-4 при длине волны 285 *ммк*. Содержание радиоактивного иттрия в элюате определяли путем пересчета активности аликвотных образцов, нанесенных на стандартные тарелочки, на полный объем.

Для приготовления гомогенатов печени и почек часть взвешенных в сыром виде тканей гомогенизировали при 4500 *об/мин* в течение 15 *мин*, затем объем гомогената доводили до 5 *мл* физиологическим раствором, тщательно перемешивали и центрифугировали 20 *мин* при 4000 *об/мин*; по 0,6 *мл* водорастворимой

части наносили на гель для фракционирования. Мочу разбавляли несколько раз, готовили по две параллельные пробы для определения содержания в ней иттрия-91 и по 0,6 *мл* вносили на колонку. Результаты выражали в процентах от введенной дозы радиоактивного иттрия после внесения поправки на самопоглощение в толщине слоя навески проб. В опытах по гельфильтрации образцов тканей содержание излучателя в отдельных фракциях определяли как в процентах от содержания во всей ткани, так и в процентах от введенного.

Перфузия конечности крыс проводилась по модифицированной методике Папенгеймера [8]. Для установления роли белков плазмы крови в процессе распада комплекса переживающую конечность перфузировали 20 *мл* 8%-ного раствора бычьего альбумина, содержащего 0,9% хлорида натрия и 1,0 или 10 *мкгмолей* иттрий-ЭДТА (pH 7,4), со скоростью 1 *мл/мин.* Белковый раствор до перфузии инкубировали при комнатной температуре в течение 30 *мин.* Пробы оттекающего перфузата отбирали для анализа. После окончания опыта определяли содержание иттрия-91 в костях и мягких тканях. Контролем служила конечность, перфузируемая раствором иттрий-ЭДТА в физиологическом растворе без белка. Для определения роли костной и мягких тканей (мышц и кожи) задней конечности крысы в расщеплении комплекса анализировали во времени содержание излучателя в тканях при перфузии 100 *мл* белкового раствора, содержащего 100 *мкгмолей* иттрий-ЭДТА. Результаты выражали в процентах от концентрации иттрия-91 в исходном растворе.

Данные по объему межтканевой среды взяты из работ [9, 10], приведены также оригинальные величины, рассчитанные для скелетной ткани на основе работы [11]. Объем депонированной крови в печени и селезенке при определении содержания межтканевой среды не учитывали. Для остатка тушки были взяты усредненные расчетные данные. Величины объемной скорости кровотока в различных органах заимствованы из работ [12, 13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности динамики распределения иттрия-91 в организме и выведения его через почки после внутривенного введения комплекса Y^{91}-ЭДТА заключаются в интенсивном выбывании его из русла крови в первые 5 *мин* вследствие физиологического разбавления. К этому сроку в крови содержится всего 14,87% излучателя, а основное его количество находится в остатке тушки (80,08%) и в почках (10,77%). Столь высокое содержание иттрия-91 в тушке и малый уровень его экскреции через почки (менее 2%) к этому сроку подтверждает данные [14] о том, что быстрое выбывание комплексона из крови в первые сроки

Таблица 1

Динамика распределения иттрия-91 в организме крыс после внутривенной инъекции Y^{91}-ЭДТА, % от баланса (98,424±1,333%)

Ткань	Срок наблюдения			
	5 *мин*	15 *мин*	1 *ч*	24 *ч*
Печень . .	2,115±0,320	1,280±0,094	1,310±0,165	0,673±0,060
Почки . .	10,769±0,809	6,029±0,952	3,906±1,346	1,108±0,096
Селезенка	0,141±0,018	0,087±0,009	0,064±0,017	0,034±0,003
Скелет . .	5,100±0,349	4,898±0,403	4,456±0,327	2,443±0,152
Остаток тушки . .	80,064±1,176	58,253±2,147	33,360±3,382	10,620±1,058
Моча . .	1,811±0,941	29,453±3,231	56,906±4,376	85,122±1,170
Цельная кровь . .	14,867±0,794	9,002±0,354	4,047,0±478	—
Эритроциты	3,113±0,350	1,785±0,376	0,342±0,162	—
Сыворотка	11,754±0,978	7,217±0,183	3,86±0,324	—

после инъекции обеспечивается проникновением его через стенки сосудов в межтканевую среду [15]. В последующие сроки активность крови снижается медленнее, что соответствует данным, полученным ранее в нашей лаборатории [15]. Заметно возрастает выделение иттрия-91 с мочой, вследствие чего падает его содержание во всех тканях и остатке тушки (табл. 1). К 24-му часу суммарное кумулирование излучателя во всех тканях составляло менее 15%.

Характер распределения иттрия-91 в организме резко отличается от описанного после внутривенного введения комплекса иттрий-НТА, % от баланса (101,997±0,819%):

	5 *мин*	24 *ч*
Печень	12,876±1,264	52,984±3,911
Почки	3,089±0,255	0,511±0,01
Селезенка	0,423±0,08	16,774±3,538
Скелет	6,187±1,056	14,330±1,467
Остаток тушки . . .	77,425±8,64	11,840±0,939
Кровь	62,91±0,11	0,988±0,288
Эритроциты	2,746±0,769	—

Через 5 *мин* в крови находится 63% излучателя, а свыше 36% его выбывает в ткани. Высокое содержание иттрия-91 в остатке тушки (17,4%) обусловливается, следовательно, не столько проникновением комплекса в межтканевую среду, как иттрий-ЭДТА, сколько активностью крови. Во всей сыворотке содержится 60,41±1,243% Y^{91}, из них 49,56±1,05% связано с белком, 2,32±0,03% — в форме Y^{91}-НТА и 8,53±0,18% задер-

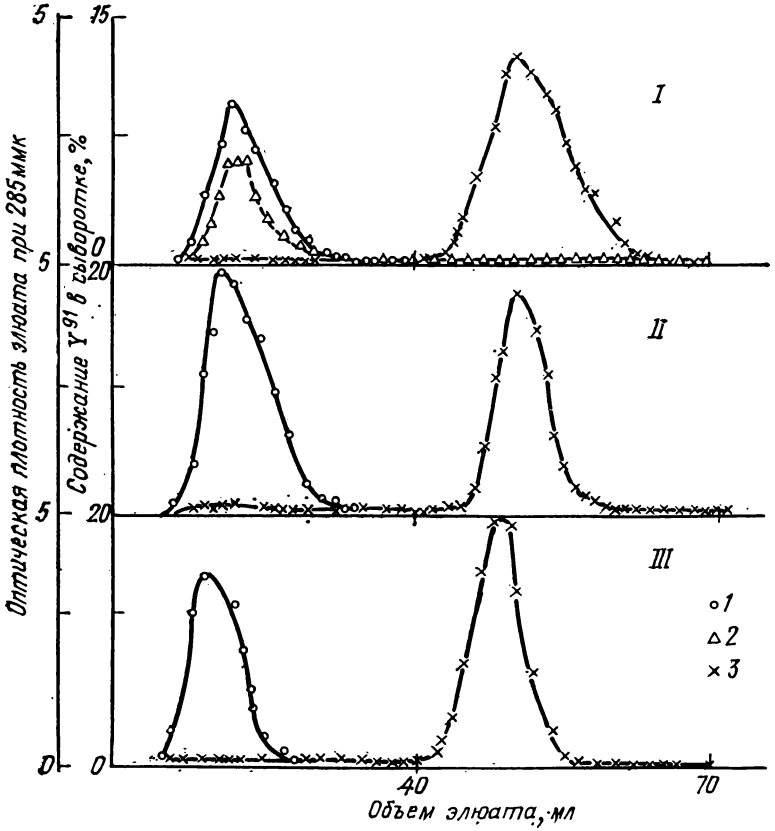


Рис. 1. Гельфильтрация образцов сыворотки крови после внутривенной инъекции комплексов Y^{91}-НТА и Y^{91}-ЭДТА. Сефадекс Г-75, колонка 1,2 × 53 *см*, трисбуфер, pH 7,4, скорость элюирования 16 *мл/ч*. По оси ординат — распределение содержащегося в сыворотке иттрия-91 по фракциям элюата.

1 — белок; *2* — иттрий-НТА; *3* — иттрий-ЭДТА. *I* — 5 *мин*; *II* — 15 *мин*; *III* — 1 *ч*.

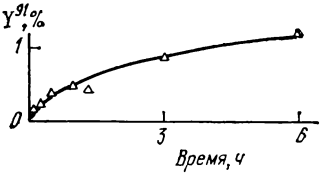


Рис. 2. Динамика накопления иттрия-91 в форменных элементах крови в системе эритроциты — сыворотка, содержащей 10 *мкгмолей* Y^{91}-ЭДТА.

живается сефадексом. Заметно более высоким было отложение излучателя и в печени (13%). Через сутки в организме остается 96,5% радиоактивного иттрия, что свидетельствует о полном распаде комплекса.

Обращает на себя внимание то, что распределение излучателя, «освободившегося» при частичном разрушении Y^{91}-ЭДТА, отличается от распределения как невесомых, так и весомых количеств иттрия в организме. И, наоборот, при полном распаде комплекса Y^{91}-НТА поведение радиоизотопа в основном соответствует поведению такой же дозы простой соли металла [16, 17]. Полученные данные указывают на то, что процесс распада этих хелатных соединений и распределение несвязанной комплексоном доли иттрия по тканям обеспечивается различными механизмами. Выяснение этих механизмов представляет большой интерес.

Существенное значение для судьбы комплексов металлов в организме имеет взаимодействие компонентов крови, являющейся первичным депо при внутривенном введении, с закомплексованным излучателем. Нами были проведены опыты по определению физико-химического состояния иттрия-91 в сыворотке крыс на разные сроки после инъекции комплексов методом гельфильтрации на сефадексе Г-75. Через 5 *мин* после введения Y^{91}-НТА 82% от содержащегося в сыворотке иттрия-91 находится в виде металл-белкового комплекса и лишь 3,85% связано с НТА (рис. 1). Свыше 14% радиоизотопа задерживалось материалом колонки и выделялось из нее лишь промыванием 0,025 М раствором ЭДТА. Совершенно иное соотношение фракций иттрия получено при гельфильтрации образцов сыворотки после инъекции Y^{91}-ЭДТА. Основную долю излучателя в них составляла комплексная форма (98,45%—97,95%), а белками на 5-й минуте связывалось не многим более 1%. К 15-й минуте величина этой фракции увеличивалась до 4,14% ($p=0{,}04$), а затем снова уменьшалась до исходной величины. Материалом колонки задерживалось 0,93—0,37% от содержащегося в сыворотке радиоактивного иттрия. Следует оговориться, что здесь и в дальнейшем при обсуждении результатов опытов по гельфильтрации мы не рассматриваем состав этой фракции, поскольку на данном этапе исследований нельзя идентифицировать ее с каким-либо состоянием металла. Вполне вероятно, что сефадекс способен задерживать не только ионную, но и гидроокисную форму иттрия.

Полученные данные свидетельствуют о том, что вклад сывороточных белков в расщепление хелатных соединений металлов в крови определяется их способностью конкурировать с комплексоном за металл. Малоустойчивые комплексы типа Y^{91}-НТА в значительной степени распадаются в крови в результате конкуренции белков сыворотки уже в течение первых минут после введения, в то время как величина распада устойчивых ком-

Таблица 2

Фракции иттрия-91 в сыворотке крови, гомогенатах печени и почек после внутривенной инъекции Y^{91}-ЭДТА, % от введенной дозы на крысу

Фракция	Сыворотка			Гомогенат печени			Гомогенат почек		
	5 *мин*	15 *мин*	1 *ч*	5 *мин*	15 *мин*	1 *ч*	5 *мин*	15 *мин**	1 *ч*
Y^{91}-белок	0,132±0,062	0,298±0,051	0,045±0,024	0,350±0,005	0,575±0,079	0,624±0,074	1,275±0,309	0,920	0,589±0,207
Y^{91}-ЭДТА	11,52±0,03	6,76±0,09	3,80±0,03	1,421±0,046	0,562±0,050	0,555±0,120	9,280±0,488	4,910	3,220±0,303
Связано сефадексом	0,11±0,05	0,16±0,07	0,014±0,010	0,349±0,046	0,143±0,056	0,146±0,051	0,214±0,177	0,189	0,141±0,120

* Данные по двум повторностям.

Таблица 3

Концентрация иттрия-91 в тканях на 24 *ч* после внутривенной инъекции комплексонов*

Ткань	Y^{91}-ДТПА	Y^{91}-ЦГТА	Y^{91}-ЭДТА	Y^{91}-ДДТЭ	Y^{91}-НТА
Печень	0,242±0,050	2,940±0,131	0,393±0,020	0,664±0,051	6,820±0,595
Почки	10,390±0,719	9,810±1,794	6,940±0,409	5,090±0,191	0,317±0,006
Селезенка	0,452±0,064	2,050±0,357	0,301±0,005	0,237±0,011	29,84±6,293
Скелет	1,320±0,068	2,320±0,646	1,985±0,119	1,845±0,341	1,226±0,125
Остаток тушки	0,268±0,068	0,152±0,037	0,271±0,008	0,271±0,021	0,051±0,004

* Результаты выражены в процентах от оставшегося в организме на 1 *г* сырого веса тканей.

плексов при взаимодействии их с белками очень мала (табл. 2). Аналогичные результаты были получены и в опытах на переживающей конечности крысы методом перфузии растворов белка, содержащих 1 или 10 *мкгмолей* комплекса Y^{91}-ЭДТА. Содержание радиоактивного иттрия в вытекающем перфузате увеличивалось на 23% при перфузии 1 *мкгмоля* комплекса в растворе альбумина по сравнению с перфузией такой же дозы Y^{91}-ЭДТА в физиологическом растворе. Содержание иттрия-91 в вытекающем перфузате и депонирование в тканях при 10 *мкгмолях* комплекса в присутствии альбумина достоверно не изменялось по сравнению с контролем. Эти данные указывают также и на зависимость степени конкурентного воздействия белков сыворотки от дозы инъецируемого комплекса.

Суммарный вклад крови в распад комплексов слагается из взаимодействия всех ее компонентов с закомплексованным металлом. Эритроциты так же участвуют в этом процессе. В модельных опытах по изучению роли клеток крови в расщеплении комплекса Y^{91}-ЭДТА при отсутствии циркуляции показано, что в течение 6 *ч* происходит кумуляция излучателя клеточной фракцией. Перераспределение радиоизотопа в системе эритроциты — сыворотка показано на рис. 2. При перфузии переживающей конечности взвесью форменных элементов крови в физиологическом растворе с содержанием Y^{91}-ЭДТА 1 *мкгмоль* транзитное прохождение излучателя в перфузате возрастает, что также указывает на способность эритроцитов связывать часть иттрия-91, предотвращая выбывание его в ткани.

Эти данные, в подтверждение результатов, полученных на целостном организме, свидетельствуют о том, что белки плазмы и форменные элементы крови вносят определенный вклад в распад комплексов. Более выражено их воздействие при использовании в экспериментах низких (1 *мкгмоль*) доз комплекса.

Для выяснения механизма распада комплексов изучали физико-химическое состояние иттрия-91 в печени и почках, которые в силу их функциональных особенностей могут являться ответственными за разрушение комплексных соединений в организме. Были проведены опыты по гельфильтрации образцов водорастворимой части гомогената этих тканей. Установлено наличие также трех фракций радиоизотопа (рис. 3). В печени величина белково-связанной фракции излучателя возрастала во времени с 16,3 до 47%, в то время как содержание комплексной формы (Y^{91}-ЭДТА) снижалось с 67,2 до 42% от находящегося в печени. Сефадексом задерживалось 16,5—11,2% иттрия-91.

В почках преобладающей формой была комплексная, составляющая 86—81,5% от содержащегося в ней на разные сроки после инъекции иттрия-91. Сравнение данных, выраженных в процентах от найденной в каждой ткани активности, затруднено.

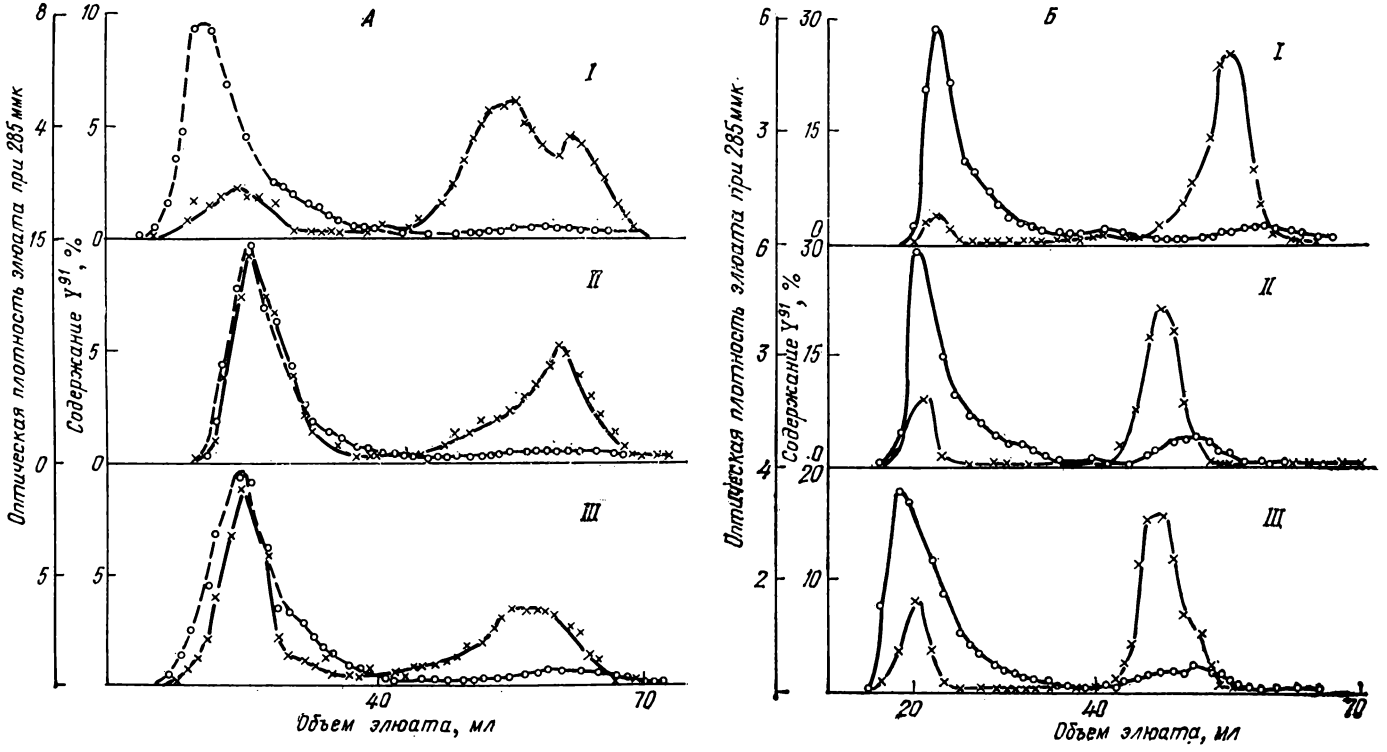


Рис. 3. Распределение иттрия-91 в водорастворимой фракции гомогената печени (*А*) и почек (*Б*).

Условия гельфильтрации и обозначения те же, что и на рис. 1.

Поэтому в табл. 2 приведены результаты экспериментов по гельфильтрации образцов сыворотки, гомогенатов печени и почек, выраженные в процентах от введенной дозы Y^{91}-ЭДТА. Как следует из этих данных, наиболее значительный вклад в расщепление Y^{91}-ЭДТА вносят белки почек и печени. Так, содержание Y^{91} в белковой фракции почек на первые 5 *мин* было почти в 10 и 4 раза больше, чем в белковых фракциях сыворотки и печени, в последующие сроки в почках оно снижается, а в печени, наоборот, возрастает.

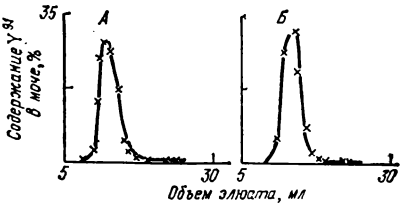


Рис. 4. Гельфильтрация образцов мочи.

А — 15 *мин*, Б — 1 *ч*. Сефадекс Г-10, колонка 1,0×34 *см*, элюат 0,9%-ный раствор хлорида натрия, скорость протекания 16 *мл/ч*. Y^{91}-ЭДТА. Обозначения те же, что на рис. 1.

Гельфильтрация образцов мочи на 15 *мин* и 1 *ч* после инъекции комплекса Y^{91}-ЭДТА подтвердила полученные ранее в лаборатории данные о том, что выделяющийся с мочой иттрий практически весь связан комплексоном [19] и лишь незначительная доля его (0,1 и 0,34% соответственно) связывалась сефадексом (рис. 4).

Концентрация элемента в тканях на 24 *ч* после инъекции отражает распределение освободившейся в процессе распада части излучателя (табл. 3), поскольку к этому сроку в организме остается менее 2% комплексона [14], при задержке излучателя для высокоустойчивых Y^{91}-ДТПА и Y^{91}-ЦГТА 2,68 и 5,75%, комплексов средней устойчивости Y^{91}-ЭДТА и Y^{91}-ДДТЭ — 13,10 и 16,36% соответственно, а для Y^{91}-НТА, полностью распадающегося в организме, в 96,5%. Распределение оставшейся в организме доли излучателя имеет свои особенности. Так, в печени с увеличением уровня распада повышается концентрация радиоизотопа. Следует отметить, что из этого ряда выпадает Y^{91}-ЦГТА, при распаде которого создается более высокая концентрация излучателя в печени, чем можно было ожидать исходя из его $K_{уст}$. Обращает также внимание отсутствие какой-либо связи величин концентрации иттрия-91 в скелете с устойчивостью комплексов; показатели содержания радиоизотопа на 1 *г* ткани были практически одинаковыми во всех группах крыс. И, наконец, концентрация иттрия-91 в почках снижается по мере увеличения уровня распада комплексных соединений в организме. Исходя из этих данных можно было бы концентрацию излучателя в тканях на 24 *ч* после инъекции комплексов оценить как эффект от конкуренции их структур с комплексоном за металл. Например, высокое накопление иттрия в печени, казалось бы, является подтверждением этому. Однако уже при поступлении комплекса иттрия с нитрилтриацетатом в кровь значительная часть его распадается в результате конкуренции

Рис. 5. Динамика накопления и отмывания Y^{91}-ЭДТА в мягких тканях (*1*) и скелете (*2*) перфузируемой конечности.

белков плазмы крови за излучатель (см. рис. 1). Такой высокий уровень связывания иттрия-91 белками (82% от содержащегося в сыворотке) характерен для весомых количеств металла [20], при которых депонирование его в печени через сутки составляет свыше 60%. Следовательно, высокая концентрация элемента в печени в данном случае может характеризовать лишь суммарный эффект. Если учесть, что концентрация комплекса Y^{91}-НТА в крови и межтканевой среде быстро падает, то так же быстро уменьшается и вклад в накопление излучателя в печени за счет отрыва металла от молекулы комплекса. По-видимому, здесь необходимо иметь в виду и другой путь поступления иттрия-91 в ткань, а именно, с белками плазмы крови. Из этого следует, что при оценке роли тканей в распаде комплексов металлов с $K_{уст}$, близкими к Y^{91}-НТА, помимо взаимодействия самих структур с хелатными соединениями, необходимо учитывать влияние и других факторов.

Для Y^{91}-ЭДТА, имеющего $K_{уст}$ на несколько порядков выше, установлены иные соотношения процессов распада в различных тканях. Резко снижается роль белков плазмы крови (см. табл. 2) из-за их слабой способности конкурировать за металл. Уже при первых протеканиях крови через ткани в них поступает значительное количество комплекса, в результате чего создаются условия для прямого взаимодействия тканевых структур с ним. Возрастает участие белков печени и почек в распаде хелатного соединения. Костной тканью уже в первые 5 *мин* за-

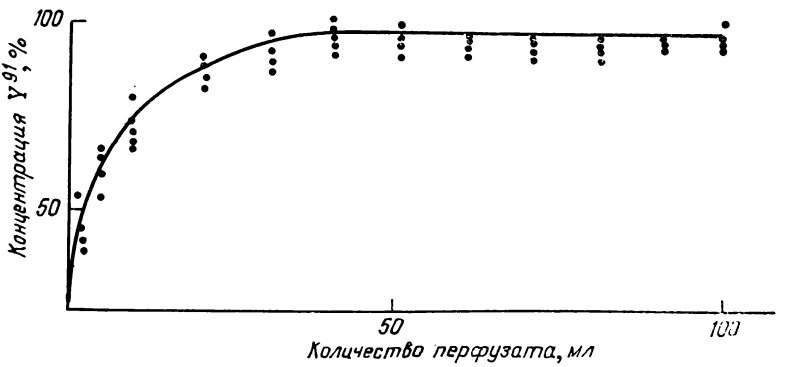


Рис. 6. Динамика концентрации Y^{91}-ЭДТА в оттекающем растворе при перфузии конечности.

хватывается заметное количество иттрия-91. При перфузии конечности крысы раствором, содержащим 10 *мкгмолей* Y^{91}-ЭДТА, установлено, что необратимое связывание иттрия-91 костной тканью составляет $2{,}45 \cdot 10^{-3}$ *мкгмолей* на 1 *г*. Это может служить показателем прямого участия костной ткани в расщеплении комплекса в условиях опытов по перфузии сосудистой сети конечности (рис. 5). На рис. 6 показана дифференциальная кривая накопления иттрия-91 в мягких тканях конечности. Можно представить себе, что на начальных этапах перфузии Y^{91}-ЭДТА проникает через капиллярную стенку и накапливается в межтканевой среде до тех пор, пока не установится динамическое равновесие по обе стороны эндотелиальной мембраны. Такое равновесие наступает после пропускания 50—55 *мл* перфузата, и кривая накопления выходит на плато. Разница между исходной концентрацией излучателя в перфузате и уровнем плато составляет 0,29% ($p=0{,}04$) и, очевидно, указывает на необратимую компоненту выбывания иттрия-91 из межклеточного пространства вследствие связывания его структурами тканей конечности. Как показывают расчеты, необратимо мягкими тканями кумулируется $8 \cdot 10^{-4}$ *мкгмолей* иттрия-91 на 1 *г*, а основное количество излучателя в них представлено комплексной формой. Эти данные подтверждаются расчетами по определению межтканевого пространства мягких тканей лапки, показавшими, что интерстициальная вода в них составляет 17,5% от веса.

Таким образом, полученные данные показывают, что удельный вклад тканей в распад комплексных соединений зависит от устойчивости связи металла с комплексоном и конкурентной способности самих тканей. Так, для хелатных соединений типа Y^{91}-НТА наиболее значительную роль в их расщеплении в условиях организма играют структуры крови. Иной механизм распада установлен для высокоустойчивых комплексов. Высказанное ранее в нашей лаборатории положение о постепенности распада таких соединений в организме и нашедшее подтверждение в полученных данных не может быть, однако, объяснено лишь различиями в аффинитете самих тканей к интересующему нас излучателю. По-видимому, объяснение этому следует искать в особенностях обмена внутренней среды органов с циркулирующей кровью, определяемых главным образом скоростью протекания крови, различающейся в разных тканях на два порядка величин, и объемом интерстициального пространства.

Это предположение нашло подтверждение при сопоставлении концентрации излучателя в тканях с объемом межтканевого пространства и скоростью кровотока. Оказалось, что содержание иттрия-91 на 1 *г* ткани возрастает с увеличением объема интерстициального пространства. Эта корреляция выявляется уже в ранние сроки после инъекции комплекса Y^{91}-ЭДТА (рис. 7) и сохраняется в более поздние сроки. Очевидно, в тканях с большим объемом межклеточного пространства при первых протe-

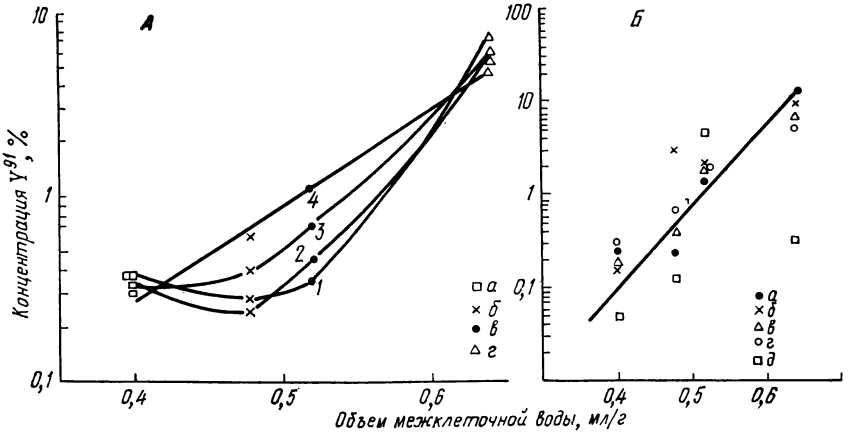


Рис. 7. Зависимость концентрации иттрия-91 в тканях от объема межклеточной воды.

А — Y^{91}-ЭДТА в динамике: *1* — 5 *мин*, *2* — 15 *мин*, *3* — 1 *ч*, *4* — 24 *ч*; *а* — скелет, *б* — остаток тушки, *в* — печень, *г* — почки; Б — разные комплексы на 24 *ч*: *а* — Y^{91}-ДТПА, *б* — Y^{91}-ЦГТА, *в* — Y^{91}-ЭДТА, *г* — Y^{91}-ДДТЭ, *д* — Y^{91}-НТА.

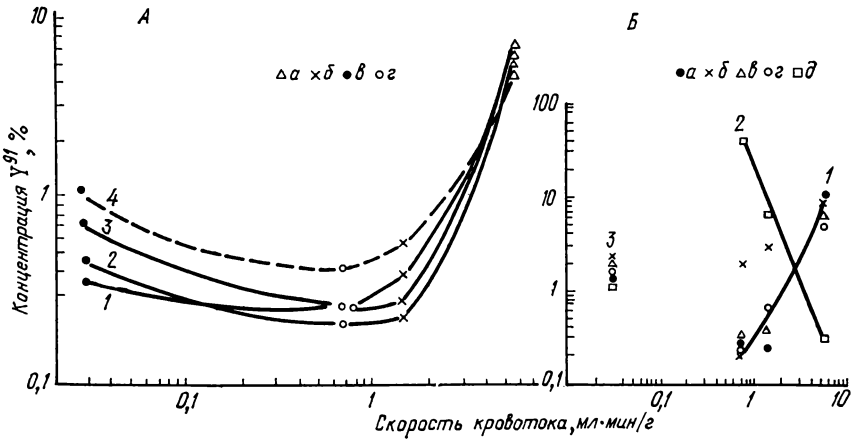


Рис. 8. Зависимость концентрации иттрия-91 в тканях от скорости кровотока.

А — Y^{91}-ЭДТА в динамике: *1* — 5 *мин*, *2* — 15 *мин*, *3* — 1 *ч*, *4* — 24 *ч*; *а* — почки, *б* — печень, *в* — скелет, *г* — селезенка; Б — разные комплексы на 24 *ч*; *1* — Y^{91}-ДТПА, Y^{91}-ЦГТА, Y^{91}-ЭДТА, Y^{91}-ДДТЭ; *2* — Y^{91}-НТА и 10 *мкгмолей* хлорида иттрия; *3* — скелет; *а* — Y^{91}-ДТПА, *б* — Y^{91}-ЦГТА, *в* — Y^{91}-ЭДТА, *г* — Y^{91}-ДДТЭ, *д* — Y^{91}-НТА.

каниях крови задерживается значительное количество комплекса, медленнее нарушается динамическое равновесие и их внутренняя среда меньше зависит от изменения концентрации вещества в притекающей крови, в отличие от тканей с меньшим объемом межтканевого пространства. Следовательно, в таких условиях и возможности взаимодействия тканевых структур с комплексом возрастают, а поэтому и увеличивается захват излучателя тканями в соответствии с ее аффинитетом.

Выявлена также зависимость концентрации иттрия-91 в тканях от скорости кровотока в них (рис. 8). Наиболее высокое концентрирование радиоизотопа в почках, где скорость кровотока в силу физиологических особенностей этого органа постоянно поддерживается на высоком уровне. Исключением из описанной закономерности является костная ткань, в которой концентрация иттрия-91 на все сроки и для всех комплексов более высокая, чем можно было бы ожидать исходя из скорости кровотока в ней. По-видимому, для этой ткани определяющим является ярко выраженный аффинитет к катионам металлов, в частности к иттрию.

Таким образом, доля участия тканей в распаде комплексных соединений в организме определяется способностью успешно конкурировать с комплексоном за металл, концентрацией комплекса в межтканевой среде и скоростью доставки его кровотоком.

Выводы

1. Установлено, что комплекс Y^{91}-НТА ($K_{уст}10^{11,4}$) практически полностью распадается в крови в результате конкуренции белков плазмы крови за излучатель. Удельный вклад крови в расщепление высокоустойчивых хелатных соединений значительно меньше.

2. Выявлена зависимость величины распада комплексов в тканях от объема межклеточного пространства и скорости кровотока в них.

3. Удельный вклад тканей в распад комплексных соединений определяется аффинитетом к данному металлу, концентрацией комплекса в межтканевой среде, скоростью установления равновесия в интерстициальном пространстве и скоростью доставки кровотоком.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.
2. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Там же, 1957, вып. 9, 20.
3. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Комплексоны (синтез, свойства, применение в биологии и медицине). Свердловск, 1958, 89.
4. H. Spenser, B. Rosoff. Diagnosis and Treatment of Radioactive Poisoning. Vienna, 1963, 171.

5. С. С. Лекохмахер. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 67.
6. С. С. Лекохмахер, Е. И. Сухачева. Там же, 1974, вып. 89, 72.
7. B. Rosoff, R. Lewin, H. Hart, J. Williams, D. Laclo. Arch. Bioch. Biophys., 1958, 78, N 1, 1.
8. Н. М. Любашевский. Теоретические вопросы минерального обмена. Труды Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР, 1970, вып. 68, 111.
9. J. Mannery, W. Bale. Amer. J. Phys., 1941, 132, N 1, 215.
10. Э. Керпель-Фрониус. Патология и клиника водно-солевого обмена. Будапешт, 1964.
11. Н. М. Любашевский. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 12.
12. Н. М. Любашевский. Материалы VI Уральской конференции физиологов, фармакологов и биохимиков. Тюмень, 1969, 269.
13. J. M. Vaughan. The Physiology of bone. Oxford, 1970.
14. H. Foreman. Metal-Binding in Medicine, 1960, 9, 82.
15. Е. И. Сухачева, С. С. Лекохмахер, Т. П. Архипова. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 43.
16. И. П. Трегубенко. Бюлл. Урал. отд. МОИП, 1958, вып. 1, 3.
17. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Комплексоны (синтез, свойства, применение в биологии и медицине). Свердловск, 1958, 75.
18. С. С. Лекохмахер, Е. И. Сухачева. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 64.
19. A. Seidel, M. Vladár, V. Volf. Strahlentherapie, 1970, 140, N 6, 717.
20. Н. М. Любашевский. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 19.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.014.461+612.015.31 : 621.039.85 : 612.35 : 616.36

А. В. БАЖЕНОВ

ОЦЕНКА РОЛИ ПЕЧЕНИ В РАСПАДЕ КОМПЛЕКСОВ Y^{91}-ЭДТА и Y^{91}-НТА

Ранее установлено [1], что даже столь устойчивый комплекс, как Y-ЭДТА, частично распадается в условиях организма. Было сделано предположение, что присутствующие в организме эндогенные катионы металлов, сорбирующие поверхности и биолиганды, обусловливают распад комплекса. Позже была определена величина распада разных комплексов в зависимости от константы их устойчивости. Так, Y-ЭДТА распадается в течение суток на 15%, а менее устойчивый комплекс Y-НТА — практически полностью [2, 3].

В одной из статей настоящего сборника [4] рассматривается роль отдельных органов в распаде хелатных комплексов. Естественно, что на целостном организме выявить участие определенного органа практически невозможно. Поэтому мы изучали роль изолированного органа (печени) в распаде комплексов Y^{91}-ЭДТА и Y^{91}-НТА.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Комплексы иттрия-91 с ЭДТА и НТА в дозе 10 *мкгмолей* с 10%-ным избытком комплексонов вводили в цельную гепаринизированную кровь крыс при температуре 37—38° С, инкубировали 5 *мин*, затем добавляли равный объем раствора Тироде с pH 7,40. В опытах с перфузией печени физиологическим раствором (0,9% NaCl) или раствором Тироде (с начальным pH обоих растворов 7,40—7,50) комплекс вводился непосредственно в указанные растворы. Объем перфузата 60 *мл*. Перфузию проводили в специальном аппарате для перфузии печени с оценкой функционального состояния органа [5]. Динамику накопления излучателя в печени (по исчезновению его из перфузионной среды) прослеживали в течение двух часов. В конце

Накопление Y^{91} в печени крыс в течение двух часов перфузии

Перфузионная среда	Время,			
	5	10	15	30
Кровь+Y-ЭДТА . . .	2,8±1,0 (3)*	6,4±1,1 (4)	11,0±1,5 (4)	10,3±1,5 (4)
Тироде+Y-ЭДТА . . .	2,6±0,5 (3)	6,2±0,3 (3)	10,2±0,3 (3)	14,0±0,3 (3)
Кровь+Y-НТА	9,4±0,2 (2)	12,5±2,1 (2)	15,4±4,7 (2)	25,3±4,9 (2)
Физиологический раствор+Y-НТА . . .	14,3±3,2 (2)	23,2 (1)	24,4±2,9 (2)	32,9±3,6 (2)

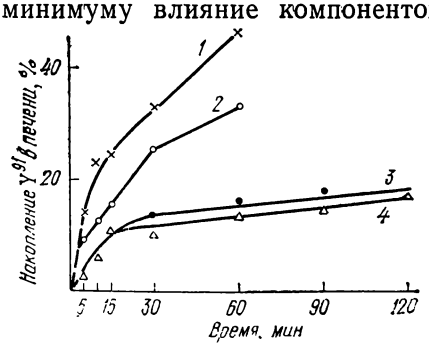
* В скобках — количество повторностей на точку. Баланс составлял 98,2±1,3% от

опыта проводили радиометрию образцов печени. Приготовление проб и их просчет производили по методике, принятой в лаборатории.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по накоплению иттрия в печени представлены в таблице и на рисунке. Критерием распада комплекса служит накопление излучателя в органе. Причем сам комплекс, по-видимому, не задерживается тканью, а количество нераспавшегося комплекса, находящегося в сосудистом русле печени (принятого по объему, согласно работе [6], за 27% от веса органа), составляло около одной четвертой от накопившегося в печени металла.

Остановимся на менее стойком комплексе Y-НТА, перфузируемом в физиологическом растворе. Мы стремились свести к минимуму влияние компонентов крови, могущих участвовать в распаде Y-НТА. Кривая *1*, отражающая величину накопления металла из физиологического раствора печенью, на всем протяжении опыта лежит заметно выше кривой поглощения излучателя из крови. Отсюда следует, что, во-первых, печень играет существенную роль в распаде комплекса и, во-вторых, компоненты крови (белки, форменные элементы) конкурируют за освободившийся металл, частично удерживая его в кровяном русле, почему и



Накопление иттрия-91 в печени при перфузии ее.

1 — физиологический раствор+Y-НТА, *2* — кровь + Y-НТА, *3* — Тироде + +Y-ЭДТА, *4* — кровь+Y-ЭДТА.

мин		
60	90	120
13,5±4,6 (4)	14,5±1,1 (4)	17,5±0,4 (4)
16,6±0,8 (3)	18,2±1,5 (3)	17,1±0,4 (3)
32,8±1,5 (6)	—	—
46,2±2,2 (4)	—	—

введенного излучателя в перфузионную среду.

снижается скорость накопления радиоактивности в печени. Кривые *3* и *4* практически совпадают; это можно объяснить, очевидно, тем, что в самой крови не происходит заметного распада более стойкого комплекса Y-ЭДТА, а потому накопление излучателя в печени следует отнести за счет расщепления комплекса печенью.

Необходимо считаться с метаболитами, выделяемыми печенью в перфузат. Они могут обладать комплексообразующими свойствами и влиять на характер кривых распада комплексов.

Следует учитывать и то, что накопившийся в печени металл, возможно (хотя и в очень незначительном количестве), находится в комплексной форме, поскольку в одной из работ было показано [7], что комплексоны ЭДТА, ДТПА могут находиться в клетках печени и желчи. Для выяснения этого необходимы экспериментальные данные по динамике накопления меченого комплексона в аналогичных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.
2. С. С. Лекохмахер. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 67.
3. А. С. Лекохмахер, Е. И. Сухачева. Там же, 1974, вып. 89, 72.
4. Е. И. Сухачева, С. С. Лекохмахер, Н. М. Любашевский. Статья в настоящем сборнике.
5. А. В. Баженов. Статья в настоящем сборнике.
6. P. Faarup. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1974, A 82, N 1, 7.
7. F. Bohne, A. Harmuth-Hoene, K. Kurzingen, F. Havlicek. Strahlentherapie, 1968, **136**, 609.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

С. С. ЛЕКОХМАХЕР

ВЫЯСНЕНИЕ КОНКУРЕНТНОЙ РОЛИ ЦИНКА В РАСПАДЕ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТАЛЛОВ В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

С точки зрения химии комплексных соединений внутренняя среда организма — сложная система катионов (металлов), анионов (биолигандов), причем соотношение их свободных и связанных форм определяется концентрационными константами устойчивости. Элементы этой системы находятся в строгих количественных взаимоотношениях, которые рассчитываются исходя из концентрации конкурирующих катионов, лигандов, pH и ионной силы среды в тех случаях, когда известны константы устойчивости. Такие расчеты сделаны для свободных катионов кальция, магния, а также связанных кальция и магния альбумином, цитратом и фосфатом [1]. Труднее определить поведение поступившего естественным путем или введенного в кровяное русло комплексного соединения, так как на его устойчивость, помимо присутствующих в крови катионов и биолигандов, влияет сорбция катиона биологическими структурами, величина которой может быть учтена только экспериментально. Еще сложнее это сделать, если центральным атомом является гидролизующийся при pH среды поливалентный металл или если интересующий нас лиганд подвергается разрушению в организме.

Естественно, что перечисленные факторы внутренней среды организма будут неодинаково воздействовать на комплексы разного состава, как, например, неодинакова конкуренция биокомплексонов и биологических структур с инкорпорированным лигандом за разные металлы, входящие в состав комплекса [2]. Но в общем величина диссоциации комплекса тем меньше, чем выше его константа устойчивости [3].

Это положение было проверено нами на комплексах определенного металла с разными, но близкими по метаболической судьбе лигандами. Причем известно, что выбранные лиганды

сами по себе не подвергаются расщеплению в организме и имеют близкие периоды полувыведения через почки [4].

При рассмотрении судьбы комплексных соединений в организме не следует забывать об основных конкурирующих эндогенных металлах, способных вытеснить центральный атом из комплекса, что фактически может явиться причиной распада изучаемого комплекса в организме. Нами использованы ионы цинка, который по своим комплексообразующим свойствам при относительно высокой концентрации в организме может рассматриваться как один из наиболее конкурентно способных эндогенных металлов. Правда, концентрация в крови таких поливалентных металлов, как кальций и магний, значительно (в 50 раз) выше, однако они образуют с данными комплексонами на 5—7 порядков менее устойчивые комплексы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проведены на самцах крыс линии Вистар шести- или семимесячного возраста. В работе использованы комплексы иттрия и свинца с этилендиаминтетрауксусной (ЭДТА), диэтилентриаминпентауксусной (ДТПА) циглогександиаминтетрауксусной (ЦГТА), нитрилотриуксусной кислоты (НТА), диаминодиэтиловым эфиром тетрауксусной кислоты (ДДТЭ), а также комплексы меди и никеля с ЭДТА.

Комплексы готовили из расчета 10 *мкгмолей* в объеме 0,4 *мл* на животное (pH 7,4, отношение металла и комплексона 1 : 1). Доза была выбрана так, чтобы не создать токсических концентраций металлов в крови при значительном распаде комплекса. Радиоактивный цинк (концентрация стабильного цинка Zn^{2+} составляла 3,1 *мкгмоля* на животное) вводили внутривенно, а через две-три минуты в параллельную хвостовую вену инъецировали комплексные соединения или натриевую соль комплексонов (10 *мкгмолей*). Группе животных, служащей контролем, вводили только радиоактивный цинк. Содержание радиоактивности определяли в тканях, органах и суточных выделениях (раздельно в моче и кале).

Об участии цинка в распаде хелатных металлокомплексов судили по изменению поведения радиоактивного цинка, который вводили животным за две-три минуты до инъекции комплексных соединений металлов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены данные по содержанию радиоактивного цинка в органах, тканях и выделениях в контроле и после введения натриевых форм комплексонов и комплексов иттрия и свинца. Количество цинка, выведенное натриевыми формами комплексонов, можно считать максимально доступным для данной дозы комплексона, тогда количество цинка, выведенное

Таблица 1

Содержание цинка-65 в органах, тканях и выделениях крыс в контроле и после введения комплексонов и комплексов иттрия и свинца, % от баланса (95—105%)

Ткань	Контроль	Na_2-ЭДТА	Y-ЭДТА	Pb-ЭДТА	Na_3-ДТПА	Y-ДТПА	Pb-ДТПА	Na_3-ДДТЭ
Печень	14,25±1,9	6,4±0,4	12,12±0,4	12,20±0,4	7,43±2,8	16,10±1,1	6,00±0,3	8,43±0,53
Почки	2,20±0,27	0,59±0,06	1,38±0,15	1,27±0,07	1,02±0,2	2,12±0,5	1,20±0,3	2,22±0,6
Селезенка	0,88±0,2	0,30±0,03	0,40±0,08	0,50±0,07	0,28±0,01	0,51±0,05	0,31±0,04	0,41±0,01
Моча	1,06±0,07	54,10±1,1	12,40±0,96	11,20±0,89	64,45±1,24	1,20±0,07	45,80±3,02	42,04±1,06
Кал	4,45±1,5	3,80±0,7	7,0±0,6	6,30±0,6	6,32±1,2	8,00±1,6	6,10±1,2	3,33±0,69
Скелет	20,15±2,56	10,19±2,25	12,40±0,78	10,23±0,71	6,46±1,85	13,00±2,54	4,26±0,29	8,8±2,57
Остаток мягких тканей	54,60±1,31	23,40±1,35	52,00±1,5	56,10±1,5	13,20±3,34	56,83±3,43	35,23±3,63	33,49±2,62
Кровь	2,42±0,07	1,30±0,29	2,30±0,14	2,20±0,11	0,84±0,29	2,24±0,96	1,10±0,3	1,28±0,28

Ткань	Y-ДДТЭ	Pb-ДДТЭ	Na_3-НТА	Y-НТА	Pb-НТА	Na_2-ЦГТА	Y-ЦГТА	Pb-ЦГТА
Печень	12,42±1,89	8,07±0,99	14,02±1,5	13,42±2,0	10,5±0,5	13,0±0,7	16,8±2,7	12,5±0,7
Почки	2,62±0,9	1,37±0,1	2,12±0,3	2,24±0,7	2,60±0,3	2,2±0,4	2,60±0,4	2,2±0,4
Селезенка	0,58±0,05	0,48±0,04	0,54±0,32	0,58±0,29	0,72±0,09	0,4±0,002	0,83±0,4	0,7±0,04
Моча	9,45±0,58	43,09±2,19	10,33±1,24	10,37±1,53	12,52±0,8	19,42±1,49	0,98±0,4	2,56±0,27
Кал	7,23±0,92	3,04±0,35	7,03±0,83	4,42±0,26	7,62±0,34	6,60±0,54	6,00±0,71	9,15±1,7
Скелет	12,01±1,45	7,05±0,3	13,18±3,06	14,63±3,28	13,14±1,0	10,33±2,0	14,12±3,0	11,5±0,2
Остаток мягких тканей	53,73±5,59	35,58±1,01	51,13±2,51	52,22±3,57	51,60±1,51	46,26±2,52	56,14±5,43	58,2±1,5
Кровь	1,96±0,25	1,32±0,29	1,65±0,24	2,12±0,16	1,4±0,02	1,79±0,39	2,53±0,28	3,09±0,59

комплексами иттрия и свинца, может быть выражено в процентах от максимального количества.

Как видно из рис. 1, наблюдается зависимость между максимально доступной частью металла для комплексона и константами устойчивости цинка с этими комплексонами, т. е. чем больше константа устойчивости, тем больше доля металла, доступного для комплексона.

Количество цинка, выведенное после инъекции животным разных комплексов иттрия и свинца, только для комплексов Y-НТА, Pb-НТА и Pb-ДДТЭ такое же, как и при введении натриевых солей этих комплексонов. Не отличается от контроля (инъекции радиоактивного цинка) выведение цинка-65 после введения комплексов Y-ДТПА, Y-ЦГТА и Pb-ЦГТА. Одинаково незначительно повышается выведение цинка под влиянием комплексов Y-ЭДТА, Pb-ЭДТА и Y-ДДТЭ (22% от доступного). Характер распределения радиоцинка после введения натриевых форм комплексонов и комплексов иттрия и свинца не менялся (см. табл. 1).

Изменения поведения цинка-65, наблюдаемые после введения комплексов иттрия и свинца (подобно влиянию натриевых форм комплексонов увеличивается выведение радионуклида с мочой), указывает на то, что и в этих случаях цинк взаимодействует с этими соединениями. Это означает, что так же, как и после введения свободных комплексонов, образуется комплекс (цинк-комплексон), возникновение которого связано с распадом вводимого. В связи с этим встает вопрос, связано ли образование комплексов цинка с вытеснением им иттрия или свинца из комплекса или же радиоактивный цинк взаимодействует со свободным комплексоном, т. е. не участвует в разрушении вводимого соединения.

Если наблюдаемые изменения в выведении радиоактивного цинка связаны с вытеснением им металла из вводимого комплекса, то величина этого выведения должна быть тем больше, чем выше значение константы вытеснения цинка. Константа вытеснения цинка рассчитывается так же, как и константа вытеснения кальция [5], и представляет собой отношение констант устойчивости цинка и металла, с которым он конкурирует за комплексон (табл. 2):

$$K_{\text{выт}} = \frac{K_{\text{уст}}\,\text{ZnL}}{K_{\text{уст}}\text{MeL}}.$$

Таблица 2

Константы вытеснения цинка

Металл	ЭДТА	ДТПА	ЦГТА	ДДТЭ	НТА
Иттрий	—1,7	—4,0	—0,4	—2,4	—1,0
Свинец	—1,7	—0,1	—1,0	—0,9	1,4
Медь	—2,4	—3,1	—2,6	—	—2,3
Никель	—2,2	—1,8	—0,7	+0,6	—1,1

Примечание. Знак минус перед константой вытеснения означает, что константа устойчивости цинка меньше константы устойчивости вытесняемого им металла.

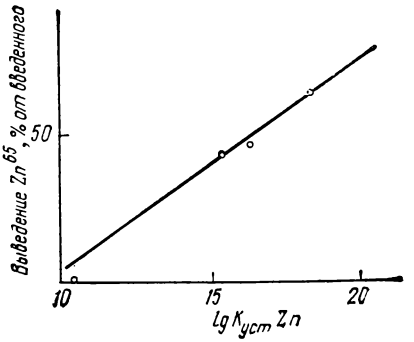


Рис. 1. Доступность цинка-65 для разных комплексонов.

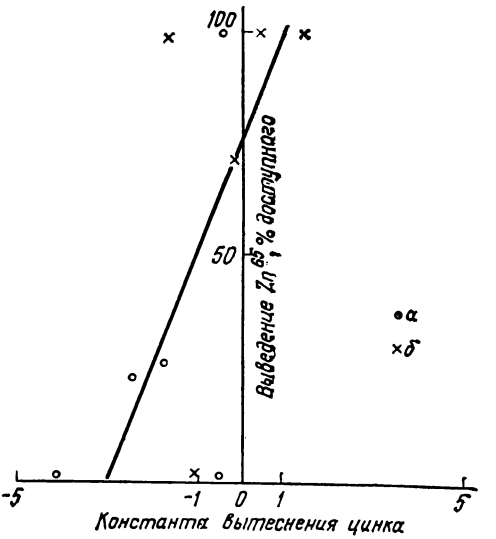


Рис. 2. Зависимость выведения радиоактивного цинка от констант вытеснения цинка.

а — введение комплексов иттрия, *б* — введение комплексов свинца.

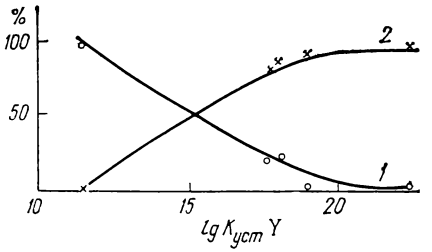


Рис. 3. Сравнение выведения цинка-65 (*1*) после введения комплексов иттрия и устойчивости комплексов иттрия-91 (*2*) в организме.

Для целого ряда комплексов это условие невыполнимо (рис. 2), что проверялось на комплексах одинаковой устойчивости, образуемых разными металлами с одним и тем же комплексоном (ЭДТА). Следовало бы ожидать, что если изменения в выведении цинка-65 связаны с непосредственным взаимодействием его с вводимым соединением, то после введения комплексов одинаковой устойчивости величина выведения радиоцинка будет также одинакова ($K_{уст}=10^{18}$):

	Моча	Кал
Контроль	1,42±0,14	8,5±1,1
Na_2-ЭДТА	54,17±1,09	3,99±0,72
Y-ЭДТА	12,7±0,97	7,2±0,88
Pb-ЭДТА	11,6±0,89	6,5±0,62
Cu-ЭДТА .	55,3±2,5	2,7±0,04
Ni-ЭДТА	16,9±0,81	8,72±0,72

Разный уровень выведения радиоактивного цинка в этом случае позволяет предположить, что происходящий в организме распад комплексов неодинаков и, возможно, не связан с вытеснением цинком металла из вводимого комплекса. Отсюда вероятно, что количество выведенного цинка зависит не столько от способности его вытеснять металл из вводимого комплекса, сколько от устойчивости связи металла и комплексона в комплексном соединении. Подтверждением этому и служит зависимость, представленная на рис. 3. Количество выведенного цинка растет с повышением величины распада комплексов иттрия и уменьшается с увеличением устойчивости этих комплексов.

Таким образом, все вышеизложенное является, по нашему мнению, достаточно убедительным доказательством тому, что при рассматриваемом соотношении конкурирующих веществ происходит не вытеснение металлов из их хелатов цинком, а, скорее, разрушение хелатов с высвобождением лиганда, который и комплексовал цинк.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. McLean, A. Hasting. J. Biol. Chem., 1934, **107**, 337.
2. Е. И. Сухачева, С. С. Лекохмахер, Н. М. Любашевский. Статья в настоящем сборнике.
3. С. С. Лекохмахер, Е. И. Сухачева. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 72.
4. H. Foreman. Metal-Binding in Medicine, 1960, **9**, 82.
5. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 51.001.57 : 621.039 : 85 : 591.471.3

В. С. БЕЗЕЛЬ, Б. В. ПОПОВ

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСОНА НА МЕТАБОЛИЗМ ЭНДОГЕННОГО ЦИНКА

При терапии отравлений радиоактивными и стабильными металлами широкое применение получили комплексообразующие соединения. Однако отсутствие у этих препаратов узкой специфичности к токсическим металлам приводит к повышенной потере организмом ряда физиологически важных катионов и прежде всего цинка. Выраженность нарушения гомеостаза, вызываемого комплексоном, будет определяться как степенью обеднения организма эндогенными металлами, так и интенсивностью процессов восполнения этого дефицита.

В настоящем сборнике подробно рассмотрена модель метаболизма цинка в животном организме [1]. В рамках многокамерной модели была предпринята попытка с возможно большей полнотой отразить метаболизм этого элемента. Однако действие комплексона затрагивает непосредственно лишь отдельные камеры этой модели, прежде всего камеру плазмы крови и межклеточной жидкости, а также те, в которых интенсивность обмена цинка наиболее высока. Поэтому полная развернутая модель может быть заменена упрощенным вариантом, отражающим наиболее существенные стороны действия комплексона на обмен цинка (рис. 1).

Можно считать, что выведение свободного комплексона и комплекса с металлом из организма животных (коммуникационные константы K_2 и K_3) происходит по экспоненциальному закону с периодом полувыведения $T^1/_2 = 30$ *мин* [2, 3]. Мы предполагали также, что комплексон, введенный внутрибрюшинно или внутривенно, взаимодействует с металлом, находящимся в плазме и внеклеточной жидкости организма. В основу этого взаимодействия мы положили обычное уравнение химической кинетики

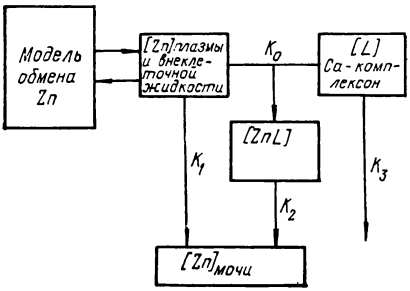


Рис. 1. Фрагмент общей модели действия комплексона на метаболизм цинка.

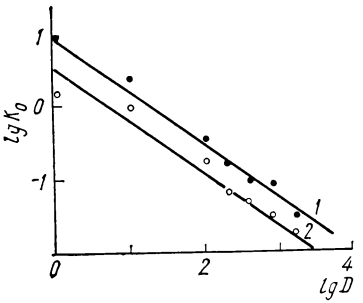


Рис. 2. Зависимость коэффициента K_0 от дозы однократно вводимого комплексона.
1 — ДТПА, *2* — ЭДТА.

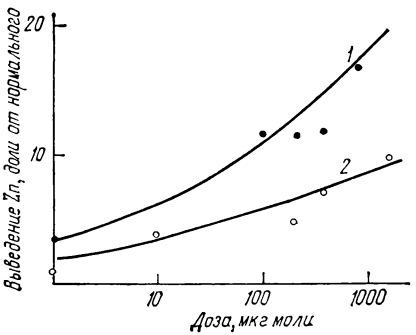


Рис. 3. Выведение эндогенного цинка с 4-часовой мочой при различных дозах комплексона. Расчет и экспериментальные данные [3, 4].
1 — ДТПА, *2* — ЭДТА.

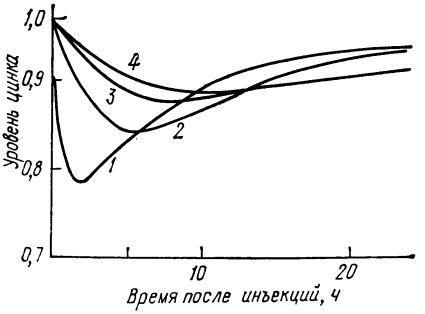


Рис. 4. Изменение уровня цинка во внеклеточной жидкости и некоторых органах крыс после однократной инъекции 600 *мкгмолей* Са-ДТПА.
1 — плазма крови и внеклеточная жидкость, *2* — поджелудочная железа, *3* — печень, *4* — почки.

$$\frac{d[ZnL]}{dt} = K_0[Zn]^n[L]^m,$$

где [ZnL] — количество закомплексованного металла в межклеточной жидкости организма; [L] — количество свободного лиганда; [Zn] — металл плазмы и внеклеточной жидкости, доступный действию комплексона. Соответствующий фрагмент модели может быть описан системой линейных дифференциальных уравнений:

$$\frac{d[ZnL]}{dt} = K_0[Zn]^n[L]^m - K_2[ZnL];$$

$$\frac{d[Zn]_{мочи}}{dt} = K_1[Zn] + K_2[ZnL];$$

$$\frac{d[L]}{dt} = -K_0[Zn]^n[L]^m - K_3[L].$$

Первоначально предполагали, что порядок реакции комплексования равен двум ($n=m=1$). При этом задача сводится к определению коэффициента K_0, определяющего кинетику комплексования цинка в условиях организма. Подробные данные Хавличека [4] и Дворжака [5] о количестве эндогенного цинка, выводимого с мочой в течение 4 *ч* после инъекции крысам различных доз кальциевых солей ЭДТА и ДТПА, позволили нам по модели определить значение этого параметра. На рис. 2 представлена зависимость коэффициента K_0 от дозы однократно вводимого комплексона. Полученный вид зависимости $K_0=f(D)$ показывает, что порядок реакции комплексования в условиях организма отличен от 2. Наибольшее соответствие экспериментальным данным получено нами при постоянном значении коэффициента $K_0=1{,}58$ для Са-ЭДТА и 3,2 для Са-ДТПА; порядок реакции для обоих комплексонов равен 1,26 ($n=1$, $m=0{,}26$). На рис. 3 приведены экспериментальные данные Хавличека и Дворжака [3, 4] и расчетное значение количества цинка, выводимого с мочой после инъекции комплексонов.

Полученные значения параметров модели позволяют в дальнейшем рассмотреть любой режим введения комплексонов (различные дозы хелатов и интервалы между инъекциями) с точки зрения изменения уровня цинка в организме животного.

Однократная и многократные инъекции комплексонов. Рассмотрим однократное внутривенное введение крысам 600 *мкгмолей* кальциевой соли ДТПА (рис. 4). Наибольший дефицит цинка в межклеточной жидкости (до 80% от нормального уровня) наблюдается через 1,5—2,0 *ч* после инъекции комплексона. Последующие процессы компенсации этого дефицита уже в течение 12—17 *ч* почти полностью восстанавливают исходное содержание металла. Как и следует ожидать, снижение уровня металла в жидкостях организма прежде всего

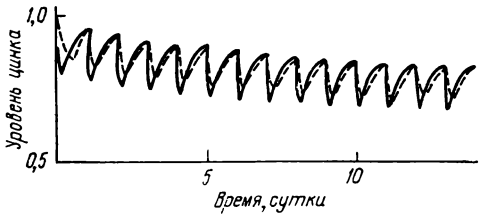


Рис. 5. Содержание цинка во внеклеточной жидкости (*сплошная линия*) и поджелудочной железе (*штриховая*) при многократных ежедневных инъекциях 400 *мкгмолей* Са-ЭДТА.

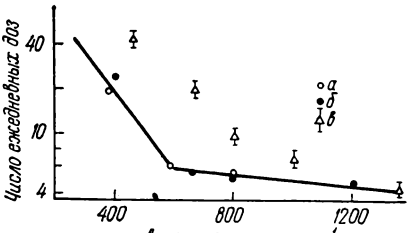


Рис. 6. Число ежедневных инъекций комплексонов Са-ДТПА (Q=1) и Са-ЭДТА (Q=2), соответствующих *LD* 50%.
а — Са-ДТПА [7], *б* — Са-ЭДТА [7], *в* — С-ДТПА [8].

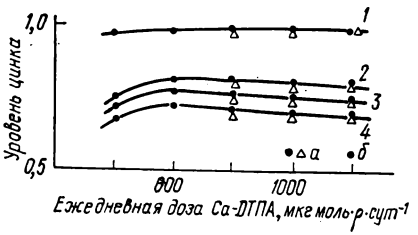


Рис. 7. Уровень цинка в органах крыс после различных вариантов введения Са-ДТПА, соответствующий уровню летальности *LD* 50%.
а — данные [8], *б* — данные [7]; *1* — желудочно-кишечный тракт, *2* — печень, почки, *3* — поджелудочная железа, *4* — межклеточная жидкость.

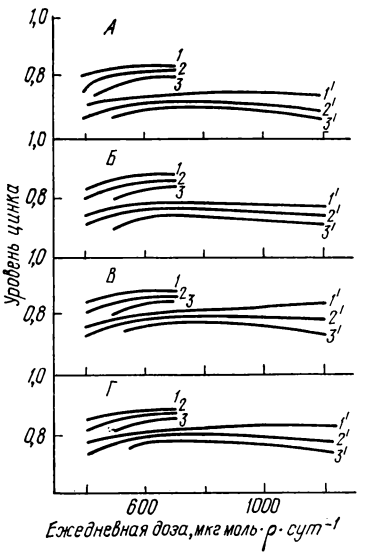


Рис. 8. Уровень цинка в органах крыс после введения Са-ЭДТА (*1—3*) и Са-ДТПА (*1′—3′*), соответствующий уровню летальности 15 (*1*), 50 (*2*) и 85% (*3*).
А — межклеточная жидкость, *Б* — поджелудочная железа, *В* — печень, *Г* — почки.

отразилось на содержании цинка в тех органах, интенсивность обмена которых с плазмой крови наиболее высока. Так, на однократную инъекцию комплексона наиболее остро реагирует поджелудочная железа (минимальное снижение до 0,85 от нормы к 6-му часу после инъекции). В меньшей степени снижается содержание цинка в почках и печени. Восстановление исходного уровня в этих органах также идет медленнее и к концу суток составляет около 94%. Может ли это остаточное снижение уровня цинка оказаться существенным при многократных ежедневных инъекциях, когда последующая инъекция комплексона накладывается на имеющийся дефицит и усугубляет его?

В качестве примера рассмотрим модель курса многократных инъекций комплексона Са-ЭДТА с ежедневной дозой 400 *мкгмолей* на животное (рис. 5). Несмотря на то, что к исходу суток после инъекции комплексона содержание металла в значительной мере восстанавливается, общий уровень цинка снижается. При достаточно большом количестве инъекций (в нашем примере свыше 10) устанавливаются стабильные суточные колебания на постоянном среднем уровне около 75% от нормального содержания цинка в плазме и внеклеточной жидкости. Дальнейшие инъекции комплексона уже не могут существенно изменить этот уровень, поскольку наступает динамическое равновесие между энтеральным поступлением цинка в организм и той повышенной экскрецией, которая вызвана ежедневными введениями комплексона. Изменение величины ежедневной дозы через определенное количество инъекций приведет к установлению нового равновесного состояния.

О токсичности комплексообразующих соединений. В ряде работ [6, 7] обсуждался вопрос о возможной связи токсического действия комплексонных инъекций с понижением уровня цинка в некоторых системах организма. Однако если при достаточно больших дозах, приближающихся к однократно летальной дозе (для крыс *LD* 50% = 8—19 *ммоль/кг*$^{-1}$), токсичность хелатов может быть обусловлена снижением уровня цинка в определенных системах организма, то при хроническом введении комплексонов, вероятно, существенным будет не только пониженный уровень металла, но и продолжительность такого «состояния дефицита». В этом отношении особый интерес имеют работы Кача [8, 9], в которых рассмотрены уровни токсичности *LD* 15, 50 и 80% при различных режимах введения комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА. На рис. 6 воспроизведена зависимость числа ежедневных доз, определяющих *LD* 50%, от величины однократной дозы. Введение нормирующего множителя ρ, учитывающего различную эффективность применяемых комплексонов, позволило получить единую зависимость числа инъекций для комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА при реализации определенного токсического эффекта. Уровень эндогенного цинка в отдельных системах организма будет зависеть

не только от режима введения комплексонов (частота инъекций и величина дозы), но и от интенсивности процессов, восполняющих образовавшийся дефицит металла за счет энтеральной резорбции или поступления из других тканей. Предлагаемая математическая модель действия комплексона позволяет рассчитать уровень цинка в важнейших с точки зрения метаболизма этого металла системах организма при различных условиях поступления комплексонов.

На рис. 7 приведены рассчитанные по модели уровни цинка в некоторых органах животных при реализации различных вариантов введения комплексонов Са-ДТПА, вызывающих единый токсический эффект (*LD* 50%). Расчет проведен для режимов, приведенных на рис. 6 [7, 8]. Наибольшее снижение уровня цинка наблюдается в плазме и внеклеточной жидкости до 0,68—0,70 нормального уровня, в поджелудочной железе 0,72—0,76, в печени и почках 0,75—0,78. Как и следовало ожидать, наименьшее изменение наблюдается в желудочно-кишечном тракте, так как прежде всего здесь происходит восполнение дефицита цинка за счет энтерального поступления.

Необходимо отметить, что пониженный уровень цинка в рассматриваемых органах, вероятно, не может явиться первичной причиной наблюдаемой токсичности. Многочисленные данные указывают, что в условиях цинкдефицитной диеты у животных происходит большее обеднение организма цинком[1]. Вероятно, различие заключается в том, что при цинкдефицитной диете эксперимент достаточно длительный. В течение этого времени может происходить адаптация организма к условиям недостаточности цинка. Аналогичные адаптационные изменения могли быть и в нашем случае, когда число инъекций, соответствующих *LD* 50%, достаточно велико (при дозах около 400 *мкгмолей* в сутки на животное производится свыше 20 ежедневных инъекций). В соответствии с этим при малых дозах наблюдается большее снижение уровня цинка (см. рис. 7). При достаточно больших дозах, превышающих 600 *мкгмолей*, токсический эффект реализуется уже после 4—5 инъекций, и организм интенсивно теряет цинк. Адаптационные механизмы не успевают защитить организм от повышенной потери металла. Предельный случай соответствует однократно летальной дозе.

Зависимость токсичности комплексонов от уровня цинка в организме может быть рассмотрена более подробно, если по данным Кача рассчитать этот уровень в основных, с точки зрения метаболизма цинка, органах для трех степеней токсичности (*LD* 15, 50 и 80%), вызываемых ежедневными инъекциями различных доз комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА (рис. 8).

---

[1] В работе [10] уровень цинка в крови составлял ~0,58 от нормального значения, в печени ~0,65 в результате 35-дневной цинкдефицитной диеты.

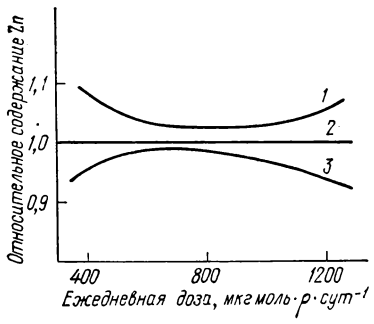


Рис. 9. Относительное содержание цинка в органах по отношению к уровню *LD* 50%. *1—3* — соответственно *LD* 15, 50 и 85%.

Если предполагать, что токсичность комплексонов однозначно определяется содержанием цинка в рассматриваемых органах, то одинаковая степень токсичности должна быть обусловлена равным дефицитом этого металла независимо от вида применяемого препарата (мы имеем в виду одинаковое число ежедневных инъекций ЭДТА и ДТПА для доз, скоррелированных на множитель ρ и приводящих к одной величине *LD*). Однако приведенные на рис. 8 уровни цинка, соответствующие равным величинам *LD* для этих комплексонов, не совпадают. Так, в межклеточной жидкости после инъекций Са-ДТПА содержание цинка составило в зависимости от уровня токсичности 0,66—0,74 нормального значения, в то время как при введении Са-ЭДТА 0,75—0,83. Аналогичная картина наблюдается в других органах. Несовпадение уровней при равном токсическом эффекте приводит нас к выводу о более сложной картине токсичности хелатов. Вероятно, несправедливо считать причиной токсичности только уровень цинка в рассматриваемых органах.

Это подтверждается и непропорциональным изменением уровня цинка при *LD* 15, 50 и 85% в зависимости от величины однократной дозы хелата. На рис. 9 уровень цинка во всех органах, соответствующий *LD* 50%, принят равным 1. Наиболее значительные изменения уровней цинка при переходе к *LD* 15 и 85% наблюдаются в диапазоне малых и больших доз. Степень изменения этих уровней для рассматриваемых органов полностью совпадает. При дозах 600—800 *мкгмолей* изменение летальности с 15 до 85% не сопровождается существенным изменением содержания цинка в органах. Возможно, что токсичность в этом диапазоне доз обусловлена каким-либо неспецифическим воздействием хелатов, не связанным с комплексованием и выведением из организма эндогенных металлов [11]. Более значительное расхождение уровней цинка в диапазоне больших доз, возможно, свидетельствует о возросшей роли дефицита этого металла в токсичности комплексона. Вероятно, при малом числе инъекций больших доз, когда не успевают срабатывать адаптационные или иные механизмы репарации, причиной токсичности хелата может явиться пониженный уровень цинка.

Конечно, 8—10%-ное изменение уровня металла при переходе от *LD* 15% к LD 85% слишком незначительно, чтобы об

этом говорить уверенно. Однако необходимо помнить, что в рамках предлагаемой математической модели мы рассматриваем в качестве однородного пула весь цинк камеры (органа или системы организма). В то же время, вероятно, лишь часть металла активно участвует в физиологических процессах обеспечения жизнедеятельности организма. Если предположить, что эта физиологически значимая часть общего цинкового пула органа и является наиболее лабильной частью, т. е. именно той фракцией металла, которая в первую очередь подвержена действию комплексона, то в условиях кратковременного опыта, когда процессы компенсации не успевают пополнить образовавшийся дефицит, даже незначительные изменения уровня цинка могут оказаться для организма столь значимыми.

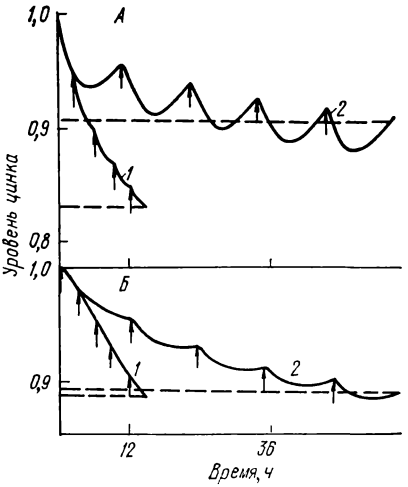


Рис. 10. Уровень цинка в поджелудочной железе (*А*) и печени (*Б*) после пятикратного введения 400 *мкгмолей* Са-ДТПА с интервалами между инъекциями 3(*1*) и 12(*2*) *ч*.

Возможность избирательного снижения уровня цинка в некоторых органах. Предлагаемый в работах Кача режим ежедневных введений комплексона, при котором каждая последующая инъекция производится после восстановления уровня цинка в организме, не позволяет рассмотреть случаи острого дефицита этого металла. Поскольку минимальная концентрация цинка в различных органах после однократной инъекции хелата наблюдается в различные моменты времени, можно предположить, что соответствующим образом подобранный режим введения хелата позволит избирательно снизить уровень цинка в некоторых органах, например в поджелудочной железе. Подобное направленное создание дефицита цинка в некоторых системах или органах возможно в результате расчета режима введения комплексона с помощью описанной нами модели. На рис. 10 представлена динамика изменения содержания цинка в поджелудочной железе и печени для двух режимов введения: пятикратное введение крысам 400 *мкгмолей* Са-ЭДТА с интервалом между инъекциями 3 и 12 *ч*. Согласно проведенному расчету, в печени снижение содержания цинка к концу периода введения для обоих вариантов примерно одинаково (около 80—84% от исходного уровня). В поджелудочной железе следующие через 3 *ч* инъекции хелата снижают содержание цинка

до 70%, а то же количество инъекций, вводимых через 12 *ч*,— лишь до 86% нормального содержания.

Экспериментальная проверка указанных режимов введения комплексона, несомненно, была бы интересной с точки зрения проверки адекватности предлагаемой модели.

Выводы

1. Создана математическая модель действия комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА на эндогенный цинк животного организма. Показано, что после инъекции повышенное выведение с мочой цинка не сопровождается значительным изменением уровня металла в важнейших органах животного. Интенсивные процессы компенсации образовавшегося дефицита быстро восстанавливают исходное состояние металла. Минимальное содержание металла в плазме и внеклеточной жидкости наступает через 1,5—2,0 *ч* после введения комплексона. Из органов животного наибольшие воздействия испытывает поджелудочная железа, минимум в которой наступает к 6-му часу.

2. Многократные ежедневные внутривенные или внутрибрюшинные инъекции комплексона постепенно снижают уровень цинка в тканях и органах животного. При достаточном числе инъекций в организме животного устанавливаются стабильные суточные колебания на постоянном среднем уровне, отражающем динамическое равновесие между энтеральным поступлением цинка в организм и повышенной экскрецией, вызванной инъекциями хелата.

3. На модели рассмотрены некоторые режимы введения комплексонов, соответствующие *LD* 15, 50 и 85%. Показано, что наблюдаемую токсичность комплексонов нельзя однозначно объяснить только снижением уровня цинка в важнейших органах и тканях животных. Однако можно говорить о наличии корреляционной связи между токсичностью и уровнем цинка в некоторых органах животного для определенного типа комплексона. Последнее обстоятельство может явиться основой для модельных расчетов оптимальной тактики комплексонной терапии.

4. Обсуждается возможность избирательного снижения содержания цинка в поджелудочной железе при применении специального режима введения комплексона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. В. Попов, В. С. Безель. Статья в настоящем сборнике.
2. H. Foreman, M. Vier, M. Magee. J. Biol. Chem., 1953, **203**, 1045.
3. F. Bohne, A. Harmuth-Hoene, A. Kurzinger, F. Havlicek. Strahlentherapie, 1968, **136**, 609.
4. F. Havlicek. Strahlentherapie, 1967, **134**, 296.
5. P. Dvorak. Там же, 1970, **139**, 611.

6. F. Bohne. Там же, 1972, **143**, 1.
7. A. Catsch. Dekorporiering radioaktiver Stabilier Metallionen. München, 1968.
8. A. Catsch. Arch. Exp. Path. Pharm., 1964, **246**, 316.
9. A. Catsch, E. Wedelstaedt. Experientia, 1965, **21**, 210.
10. M. Kirchgessner, J. Pallauf. Zs. Tierphys. Tierern. Futtermittelkund, 1972, **29**, N 65, 77.
11. В. С. Безель, Е. В. Андреева, М. Н. Белова. Статья в настоящем сборнике.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

В. С. БЕЗЕЛЬ, Е. В. АНДРЕЕВА,
М. Н. БЕЛОВА

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТНОГО СОСТАВА МОЧИ И КРОВИ ЖИВОТНЫХ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСОНОВ

Токсичность применяемых в клинике комплексообразующих соединений большинство авторов связывают с обеднением организма некоторыми эндогенными металлами [1—3], в частности с инактивацией металло-энзимных систем (например, воздействие на цинксодержащую карбоангидразу). Однако такое объяснение токсичности не может быть исчерпывающим. Кажется неожиданной, например, токсичность высокоустойчивых комплексов цинка и железа с ЭДТА или ДТПА. Здесь речь может идти скорее не об обеднении организма эндогенными металлами, а о явлениях иного порядка, возможно связанных с особенностями метаболизма самого хелата.

В жидкостях организма кальциевая форма комплексона Na_2Ca-ЭДТА или Na_3Ca-ДТПА диссоциирует на ионы натрия и анионы хелата, период полувыведения которых, по данным различных авторов [4, 5], колеблется от 20 до 50 *мин*. Столь высокая экскреция через почки отрицательно заряженных анионов неизбежно должна привести к диспропорции сопряженных процессов выведения с мочой других электролитов. Прежде всего следует ожидать существенных сдвигов в выведении натрия и хлора[1]. Определение степени такого воздействия на уровень этих элементов в крови и моче животных интересно с точки зрения возможного токсического действия комплексонных инъекций.

С этой целью нами определено содержание натрия и хлора в крови и моче животных после введения кальциевой формы ЭДТА. Опыт ставили на 8—10-месячных крысах-самцах, которым вводили трехкратно внутрибрюшинно по 200 *мкгмолей*

[1] Необходимо иметь в виду, что эти процессы протекают в условиях повышенной нагрузки организма натрием, вводимым при инъекции хелатов.

Na_2Ca-ЭДТА с интервалом 2 *ч* (общая доза 600 *мкгмолей* на животное). Контрольные группы животных в те же сроки получали внутрибрюшинно хлористый натрий, цитрат натрия и дистиллированную воду. Раствор комплексона и контрольные растворы приготавливали таким образом, чтобы количество натрия и объемы вводимых растворов были равными. В течение 6 *ч* собирали мочу, затем животных забивали. Методом нейтронно-активационного анализа определяли в моче и крови животных содержание натрия и хлора (табл. 1).

Следует обратить внимание на уменьшенное в два раза количество хлора в моче животных, получавших инъекции комплексонов. Наблюдаемая задержка хлора в организме, очевидно, не связана с избыточным количеством натрия, вводимого животным, а определяется особенностью метаболизма аниона $[Ca\text{-ЭДТА}]^{2-}$. Аналогичная задержка натрия связана также с анионом хелата, так как в других вариантах опыта содержание этого металла в моче значительно выше.

Во второй серии опытов животным вводили внутривенно радиоактивные изотопы натрия-22, хлора-36, брома-82 и йода-131. Через час первой группе животных внутрибрюшинно двукратно с интервалом 2 *ч* вводили раствор комплексона по 300 *мкгмолей* (общая доза 600 *мкгмолей*). Второй группе подобным образом вводили эквимолярную по натрию дозу NaCl; третьей — дистиллированную воду. Данные по содержанию радиоактивных изотопов в моче и крови животных представлены в табл. 2.

В моче крыс после инъекции хелатов содержание радиоактивных изотопов хлора, брома и йода уменьшилось в 1,5—4,5 раза по сравнению с мочой животных, которым вводили хлористый натрий. Несмотря на отмеченные изменения в содержании перечисленных электролитов в моче, радиоактивность крови во всех вариантах опыта практически не меняется. Исключение составляет лишь йод-131, количество которого возрастает в два раза после введения хелатов. Задержка в выведении йода, вероятно, приведет к увеличению радиоактивности щитовидной железы. В эксперименте отмечено возрастание содержания йода-131 с 15 до 19%, однако различие это статистически недостоверно. Вероятно, значительное количество йода, задержанного в организме, находится в форме, исключающей его депонирование железой. Мы рассмотрели также поведение фосфора-32, вводимого животным в виде Na_2HPO_4. Отмечено некоторое увеличение экскреции этого изотопа у животных, получавших Na_2Ca-ЭДТА.

Наблюдаемое после инъекции комплексона снижение объема 4-часовой мочи в 1,8 раза сопровождается образованием в брюшной полости животных значительного количества эксудата. Это приводит к увеличению объема внеклеточной жидкости у животных, получавших инъекцию хелата (табл. 3). Со-

Таблица 1

Количество хлора и натрия, выводимых крысами с мочой в течение 6ч, мг

Введено	Колич. вводимого натрия	Хлор	Натрий
H_2O	—	5,42	8,05
NaCl	27,6	5,20±1,26	28,14±6,55
Na-цитрат	27,6	4,59±2,36	16,3±0,65
Na_2Ca-ЭДТА	27,6	2,70±1,64	6,80±2,81

Таблица 2

Содержание радиоактивности в моче (числитель, % от введенного) и крови крыс (знаменатель, % от введенного)

Введено	Натрий-22	Хлор-36	Бром-82
H_2O	0,59±0,14 / 0,54±0,02	1,31±0,19 / 0,61±0,05	0,25±0,04 / 0,53±0,02
NaCl	3,06±0,08 / 0,60±0,02	4,86±0,63 / 0,50±0,05	1,24±0,08 / 0,45±0,11
Na_2Ca-ЭДТА	0,78±0,07 / 0,44±0,02	0,30±0,02 / 0,54±0,02	0,17±0,02 / 0,52±0,02

Введено	Йод-131		Фосфор-32
H_2O	2,59±0,52 / 0,13±0,02	(15,01±6,02)*	1,36±0,21 / 0,20±0,021
NaCl	10,33±2,35 / 0,12±0,04	—	1,72±0,15 / 0,15±0,017
Na_2Ca-ЭДТА	1,03±0,21 / 0,24±0,03	(19,43±3,37)	1,98±0,14 / 0,17±0,013

* Содержание I^{131} в щитовидной железе, % от введенного.

Таблица 3

Величина 4-часового диуреза, pH мочи и объем внеклеточной жидкости

Введено	Объем мочи, мл	pH мочи	Объем внеклеточной жидкости, % от веса тела	
			по хлору-36	по брому-82
H_2O	2,86±0,85	6,39±0,11	21,5±2,01	25,1±2,62
NaCl	2,86±0,85	6,20±0,12	20,6±2,32	29,5±4,68
Na_2Ca-ЭДТА	1,54±0,89	4,67±0,14	24,6±3,26	34,5±3,24

держание внеклеточной жидкости, определенное по концентрации в сыворотке крови животных хлора-36 и брома-82 [6], в 1 *г* ткани следующее:

Печень	0,321±0,0166
Почки	0,520±0,0311
Селезенка	0,484±0,0478
Мышцы	0,163±0,0176
Кожа	0,321±0,0326
Поджелудочная железа	0,422±0,0421
Предстательная железа	0,306±0,0430
Бедренная кость	0,346±0,0255
Кортикальный слой кости	0,234±0,0351
Хрящ	0,428±0,0814

Обсуждение результатов. Изменение электролитного состава мочи лабораторных крыс как следствие воздействия значительных доз комплексонов ЭДТА и ДТПА (уменьшение содержания натрия и увеличение калия, а также снижение диуреза) было отмечено в работе [7].

Интенсивная гломерулярная фильтрация вводимых в организм отрицательных анионов хелата, а также практически полное отсутствие их реабсорбции в канальцах почек неизбежно приводят к резкой диспропорции в выведении из организма основных межклеточных катионов и анионов. Проявлением такой компенсаторной реакции со стороны почек является значительное понижение pH мочи.

В образовании и секреции ионов H^+ в почке важное значение имеет карбоангидраза, содержащаяся в клетках проксимального и дистального канальцев (ускорение медленной реакции гидратации и дегидратации угольной кислоты). Так, при подавлении активности этого фермента (например, при введении ацитазоламида) реакция мочи становится щелочной, увеличивается выведение бикарбонатов и прекращается экскреция титруемой кислоты [6] [2].

Некоторые исследователи [4] высказывают мнение, что нефротоксичность комплексных соединений может быть обусловлена действием на ферменты, прежде всего карбоангидразу, клеток проксимального и дистального канальцев. В условиях интенсивной инактивации комплексонами цинксодержащей карбоангидразы медленная некатализируемая реакция гидратации CO_2 не могла бы в столь короткое время нашего эксперимента обеспечить необходимую повышенную секрецию водородных ионов. Это привело бы к уменьшению обратной реабсорбции натрия и повышенному его выделению с мочой, как это наблюдалось у контрольных животных, получавших инъекцию хлористого натрия. В равной мере это относится к выве-

[2] У человека за счет катализуемой реакции гидратации CO_2 в почках секретируется около 1200 *мкгмолей/мин* ионов H^+. За счет некатализируемой реакции гидратации у человека образуется лишь 300 *мкгмолей/мин* H^+ [6].

дению хлора. Полученное же в настоящей работе уменьшение pH мочи, а также сдвиги в электролитном составе мочи животных показывают, что в примененном нами режиме введения комплексона (интервал между инъекциями и дозы хелатов), вероятно, не следует ожидать значительной инактивации карбоангидразы.

С другой стороны, резкое повышение секреции водородных ионов и сопряженная с ней реабсорбция бикарбонатов тесно связаны с возрастанием реабсорбции основного внеклеточного катиона натрия [6]. Поэтому в нашем опыте, несмотря на дополнительную нагрузку организма натрием, вводимым вместе с комплексоном, количество этого электролита в моче возрастает незначительно. Увеличение экскреции этого металла наблюдается лишь у животных после введения хлористого натрия.

Необходимость поддержания электрической нейтральности канальцевой жидкости в условиях повышенной секреции ионов H^+ и задержки организмом катионов натрия, в свою очередь, приводит к изменению транспорта хлора и его аналогов. Этим и объясняется наблюдаемая после инъекции комплексонов задержка хлора, брома и йода. Последнее объясняет также и возросшие объемы внеклеточной жидкости, определяемой по хлору-36 и брому-82, а также уменьшение объема мочи у животных, получивших инъекции комплексонов. Возросшая экскреция фосфатов также может быть обусловлена низким pH мочи этих животных.

Нами рассмотрено влияние комплексонных инъекций на уровень экскреции с мочой основных электролитов. Воздействие это на организм животных, вероятно, не связано непосредственно с комплексующими свойствами хелатов и, значит, не может быть обусловлено повышенным выведением таких физиологически значимых микроэлементов, как железо, цинк, марганец и др. Подобное неспецифическое действие на почки обусловлено метаболизмом хелата и в ряде случаев может явиться причиной морфологических изменений, наблюдаемых, например, в условиях хронического введения комплексонов.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. Г. Архипова, Н. К. Демокидова. Фармакология и токсикология, 1965, **30**, 230.
2. A. Catsch. Dekorporiering radioaktiver Stabilier Metallionen. Munchen, 1968.
3. F. Bohne. Strahletherapie, 1972, **143**, 1.
4. H. Foreman, A. Harmuth-Hoene, A. Kurzinger, F. Havlicek. Strahlentherapie, 1968, **136**, 609.
5. H. Foreman, M. Vier, M. Magee. J. Biol. Chem., 1953, **203**, 1045.
6. Физиология почки. Л., «Наука», 1972.
7. P. Dvorak. Strahlentherapie, 1970, **139**, 611.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85

Л. А. СУББОТИН, Г. А. МЕНЬШИКОВА,
А. В. БАЖЕНОВ

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСОНОВ НА ПОВЕДЕНИЕ СМЕСИ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ МАРГАНЦА-54, ЖЕЛЕЗА-59, ЦИНКА-65 И ИТТРИЯ-91 В ОРГАНИЗМЕ

Радиоизотопы иттрия входят в состав неразделенного раствора осколков ядра урана, причем в выдержанном растворе составляют более 15% от общей его радиоактивности. Люди, работающие по разделению осколков урана, могут подвергаться случайному отравлению этим излучателем. Из желудочно-кишечного тракта иттрий всасывается незначительно (менее 0,5%), но при вдыхании аэрозолей резорбция его из легочной ткани доходит до 50%. При этом более половины иттрия откладывается на длительное время в скелете, что ведет к облучению и разрушению высокорадиочувствительного костного мозга.

В ряде исследований показано, что комплексоны ЭДТА, ДТПА и другие способны в значительной мере повысить выделение иттрия и других излучателей из организма и тем самым снизить интенсивность облучения. При этом чем выше инъецируемая доза комплексона, тем больше выделение излучателя.

Комплексоны в настоящее время широко используются в клинике для лечения при отравлениях стабильными и радиоактивными изотопами металлов. Однако высокие дозы комплексонов вызывают ряд токсических явлений, в основе которых, вероятно, лежит удаление из организма физиологически важных катионов, поскольку комплексоны способны связывать практически все поливалентные металлы.

В связи с этим желательно установить соотношение в выведении комплексоном токсических и физиологических катионов — своего рода терапевтический индекс.

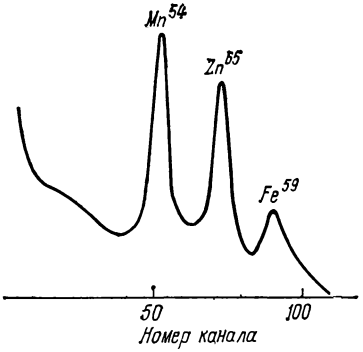


Рис. 1. Распределение спектров излучения радиоизотопов по каналам анализатора АИ-128.

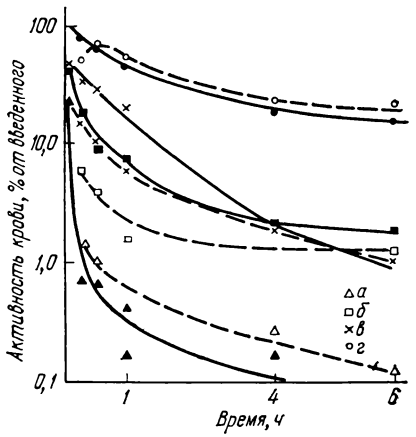


Рис. 2. Клиренс крови после внутривенного введения смеси радиоизотопов (*штриховые линии*; *сплошные* — контроль).
а — Mn, *б* — Zn, *в* — Y, *г* — Fe.

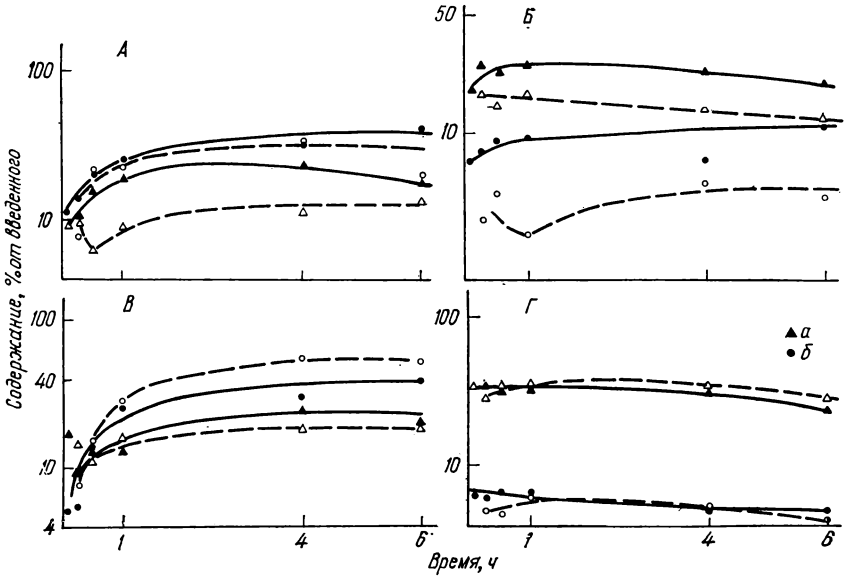


Рис. 3. Изменение содержания иттрия-91 (*А*), цинка-65 (*Б*), железа-59 (*В*) и марганца-54 (*Г*) во времени в печени (*а*) и скелете (*б*) под влиянием комплексона (*штриховые линии; сплошные* — контроль).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Из физиологических катионов нами выбраны марганец (радиоизотоп Mn^{54}, γ-излучатель с энергией 0,84 *Мэв* и периодом полураспада 291 день), железо (Fe^{59} с γ-излучением 1,1 и 1,29 *Мэв* и мягким β-излучением 0,26 и 0,46 *Мэв*, период полураспада 45 дней) и цинк (Zn^{65}, γ-излучение 1,11 *Мэв*, период полураспада 245 дней). Эти гамма-излучатели хорошо дифференцируются (рис. 1) с помощью многоканального гамма-спектрометра АИ-128. Иттрий-91 (чистый бета-излучатель с энергией 1,55 *Мэв* и периодом полураспада 60 дней) использовали в качестве токсического излучателя; измеряли торцевым бета-счетчиком.

Смесь перечисленных радиоизотопов инъецировали в хвостовую вену 6-месячным крысам-самкам, а через 3 *мин* в противоположную хвостовую вену вводили по 20 *мкгмолей* Са-ЭДТА. Определяли содержание излучателей в крови и внутренних органах в разные сроки (к моменту введения комплексона, т. е. через 3, 15 и 30 *мин*, 1,4 и 6 *ч* после инъекции радиоизотопов); мочу измеряли через 1,4 и 6 *ч*.

В качестве состава инъецируемой смеси излучателей, казалось бы, логично взять или равные концентрации всех металлов, или их естественные концентрации в крови, или концентрации, которые были в крови к моменту инъекции комплексона. Этого, однако, не позволял нам сделать состав получаемых из Всесоюзного объединения «Изотоп» растворов радиоизотопов. Так, раствор цинка-65 содержал значительные концентрации стабильного цинка (4,7 *мкгмоля* на 12,5 *мккюри*, т. е. активность, которую инъецировали крысе для удобного измерения цинка-65 в образцах тканей на АИ-128). Если довести до этой концентрации и остальные металлы, то раствор будет токсичным для крыс. Определение же естественных концентраций металлов в крови наших крыс, а тем более их остаточной концентрации через 3 *мин* после внутривенного введения связано с трудоемкими дополнительными исследованиями. Поэтому мы остановились на тех концентрациях стабильных металлов в растворах радиоактивных изотопов. Таким образом, инъецируемая крысе смесь содержала 4,7 *мкгмоля* цинка, 0,22 *мкгмоля* железа, невесомые количества иттрия-91 и марганца-54, а также примеси других стабильных металлов (кальция 0,32; магния 0,03; хрома 0,02; алюминия 0,01 *мкгмоля*); общая весомость металлов во вводимом крысе растворе (0,4 *мл*) составила 5,3 *мкгмоля*, что примерно в 4 раза меньше по молярности, чем инъецированный комплексон.

Опыт ограничен 6-часовым сроком наблюдения ввиду того, что за это время около 95% ЭДТА выбывает из организма через почки, а следовательно, выделяется и связанное им количество излучателя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 представлены кривые содержания отдельных излучателей в пересчете на всю кровь. На третьей минуте наиболее высоко содержание в крови железа-59, затем иттрия-91, цинка-65 и, наконец, марганца-54. Снижение кривой железа и иттрия происходит медленно, а цинка и марганца — очень быстро. В дальнейшем кривые выравниваются, что особенно заметно для железа и цинка (они, как известно, в большей своей части связываются эритроцитами и белками плазмы). Кривые этих двух элементов начиная со второго часа идут почти параллельно; такой же параллелизм, но при другом наклоне наблюдается у иттрия и марганца.

Влияние ЭДТА, инъецированного через 3 *мин* после смеси излучателей, выражается в значительном снижении концентраций иттрия и цинка в крови, что заметно уже с 15-й минуты. Так, в крови крыс, получивших ЭДТА, иттрия и цинка меньше к 15-й минуте на 19,23 и 12,47% соответственно, к 30-й минуте — на 18,72 и 5,84%, а к первому часу — на 14,68 и 6,16% от введенной дозы. Это снижение связано с быстрым выделением образовавшихся комплексонов через почки (в течение 12—15 *мин* с мочой выбывает около 15% ЭДТА), что подтверждается повышенным выделением этих излучателей с мочой (иттрия — с 14,5 в контроле до 28% в подопытной группе; цинка — с 0,9 до 16,1%). Константы устойчивости комплексов иттрий-ЭДТА и цинк-ЭДТА равны соответственно 10^{18} и $10^{16,3}$. По мере выбывания ЭДТА из организма различия в концентрации иттрия и цинка в крови контрольных и подопытных животных стираются. Быстрее это происходит с иттрием (к четвертому часу) ввиду того, что сам он с большей скоростью выбывает из ткани.

Иная картина наблюдается с железом и марганцем, где ЭДТА вызвал повышение их содержания в крови. Это можно объяснить тем, что комплексон, связывая в крови и тем самым препятствуя отложению излучателей в тканях, лишь в очень слабой степени повышает их выделение из организма (железа — с 0,3 до 0,5%; марганца — с 0,04 до 1,48%). Повышение концентрации в крови более выражено у железа (на 10,23% к первому часу, на 4,33 и 5,82% от введенной дозы к четвертому и шестому), чем у марганца (не более чем на 0,7% от введенного).

То, что выделение железа-59 с мочой практически не увеличилось, несмотря на повышенную концентрацию его в крови после инъекции ЭДТА, свидетельствует, по-видимому, о том, что комплекс железо-ЭДТА малоустойчив (константа устойчивости для двухвалентного железа $10^{14,3}$) и, возможно, распадается в почках. Причины этого распада неясны, тем более что еще менее стойкий комплекс марганец-ЭДТА (константа

устойчивости $10^{13,4}$) хоть и в незначительной степени, но выделяется с мочой.

В основных органах-депо при этом наблюдается следующая картина (рис. 3). ЭДТА снижает отложение в печени и скелете иттрия и цинка, т. е. тех излучателей, выделение которых с мочой повышалось в наибольшей степени. Отложение железа в печени несколько снижается, но зато заметно повышается накопление в скелете, т. е. идет перераспределение этого металла. В то же время существенных изменений в распределении марганца не наблюдается (лишь незначительно повышается отложение в печени).

Таким образом, выведение комплексоном токсического металла сопровождается значительной потерей организмом цинка, в то время как выделение марганца и железа существенно не изменяется. Полученные результаты подтверждают имеющиеся данные [1—3].

Выводы

1. Естественно присутствующие в организме катионы (цинк, марганец, железо) конкурируют с токсическим излучателем за комплексон, применяемый с лечебной целью. В наибольшей степени организм при этом обедняется ионами цинка.

2. Влияние комплексона на поведение физиологических катионов пропорционально константам стойкости их комплексов с ЭДТА.

3. Комплексон не только выводит некоторые физиологически важные катионы, но и меняет их распределение по тканям.

ЛИТЕРАТУРА

1. H. M. Perry, E. F. Perry. J. Clin. Inbest., 1959, 38, 1452.
2. H. M. Perry. Fed. Proc., 1961, 20, N 3, 254.
3. В. С. Безель, С. А. Шерстобитов, Г. И. Флорова. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 82.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

И. П. ТРЕГУБЕНКО, Г. А. МЕНЬШИКОВА,
Д. И. СЕМЕНОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТРОНЦИЯ-90 В ОРГАНИЗМЕ ПО ВЕЛИЧИНЕ ВЫВЕДЕНИЯ КОМПЛЕКСОНОМ ДТПА ДОЧЕРНЕГО ИТТРИЯ-90

Среди различных методов определения содержания радионуклидов в организме прямые измерения поверхности тела или косвенный способ оценки по естественному выделению кажутся наиболее приемлемыми. Здесь и огромный экспериментальный материал, и ряд клинических данных, и разработанные математические модели, рассчитанные функции удержания излучателя. Кроме того, такая оценка пригодна при любом радиоизотопе. Но в отдельных случаях, вероятно, следует предпочесть другие способы, например, определение содержания стронция в организме по радиоактивности зубов [1] или предложенный нашей лабораторией в 1961 г. «количественный метод определения содержания в организме токсических металлов и радиоактивных изотопов по количеству выделения их с мочой под влиянием инъекции комплексонов» [2]. Ограниченность применимости этого метода обусловлена тем, что комплексоны резко повышают выделение лишь некоторых радионуклидов, среди которых следует отметить такие, как америций, плутоний, церий, лантан, иттрий. Вместе с тем этот метод обладает и четкими преимуществами. Это прежде всего резкое, на порядки величин, повышение выделения излучателя, что позволяет увеличить точность измерений, а порой и вообще произвести измерения количества излучателя и его идентификацию. Это преимущество еще в большей степени проявляется при отравлении стабильными изотопами металлов, ввиду ограниченной чувствительности методов их определения. Еще одно преимущество — диагностика не задерживает применение комплексонотерапии.

Наряду с преимуществами при использовании комплексонного метода встречается и ряд трудностей. Выводимое количе-

ство излучателя или токсического металла зависит как от свойств самого металла, так и от типа и дозы применяемого комплексона, момента его применения и ряда других факторов [3, 4].

Ранее на церии было показано [5], что независимо от момента инъекции комплексона (через 8, 15, 31, 63, 126 суток после затравки) доза 100 *мкгмолей* ДТПА выводит с мочой 1/10 часть от содержащегося во всех мягких тканях к данному сроку излучателя (содержание церия-144 в скелете практически постоянно и составляет 20—30% от поступившего в кровяное русло). Четкая прямая зависимость была также показана между содержанием свинца (радий-Д) в организме и выведением его комплексонами с мочой [6]. В опытах же с иттрием-91 не было получено столь простого соотношения: эффективность комплексона снижалась заметно быстрее, чем содержание излучателя в организме. Это, очевидно, обусловлено тем, что основная масса (~60%) иттрия депонирована в скелете, откуда выведение его комплексоном затруднено; более же доступный излучатель, находящийся в мягких органах и тканях, составляет существенно меньшую долю и притом исчерпывается относительно быстро.

В плане расширения набора излучателей, содержание которых в организме может быть установлено комплексонным методом, нами была изучена возможность количественной диагностики отравления стронцием-90 по величине выведения его дочернего продукта иттрия-90 комплексоном. Как известно, стронций, с одной стороны, является одним из ведущих элементов в области радиотоксикологии, с другой же стороны, на его поведение в организме комплексоны не оказывают никакого воздействия. Выделение же иттрия под влиянием комплексона резко возрастает.

В отличие от данных по церию, иттрию и свинцу, где излучатели инкорпорировали внутривенно, мы рассмотрели случай, наиболее близкий к практике — пероральное поступление радиоактивной пары. Как известно, иттрий практически не всасывается из желудочно-кишечного тракта, а потому выводимый с мочой комплексоном иттрий является дочерним продуктом всосавшегося и отложившегося в костной ткани Sr^{90} и тем самым служит оценкой зараженности организма стронцием.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыт был проведен на 37 белых лабораторных крысах-самках 5-месячного возраста. Животных разделили на четыре группы по срокам введения им комплексона: на 3, 8, 16 и 64-е сутки. В I и II группах животных было по 8 шт., в III группе — 7 шт. и в IV — 14 шт. Всем подопытным животным ввели рабочий раствор $Sr^{90} — Y^{90}$ перорально в объеме 1 *мл*, что соответство-

вало 12 *мккюри* на крысу. Крысы I и II группы были сразу же посажены в обменные клетки. Остальные животные содержались в общих клетках и высаживались в обменные за 2 дня до введения комплексона в определенный срок. Комплексон ДТПА в кальциевой форме (pH 7) вводили внутрибрюшинно однократно в объеме 1 *мл*, содержащем 200 *мкгмолей*. Для раздельного определения стронция и иттрия в выделениях, а также после забоя животных в их тканях взятые кратные образцы радиометрировали по иттрию-90 (β-излучение стронция-90 отсекали алюминиевой фольгой в 130 *мг/см*^{2}) в разные сроки — от 28 *ч* после взятия образца вплоть до установления радиоактивного равновесия между стронцием и иттрием. Расчеты велись по известному уравнению

$$S_D(t)=S_D^{(o)}e^{-\lambda_D t}+S_M^{(o)}\left[1-e^{-\lambda_D t}\right].$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иттрий-90 практически не всасывается из желудочно-кишечного тракта, а потому его количество в кале за первые трое суток может служить хорошей оценкой баланса радиоактивности. Другой оценкой точности эксперимента может служить сопоставление расчетной и экспериментальной степени достижения радиоактивного равновесия в скелете к сроку забоя животных.

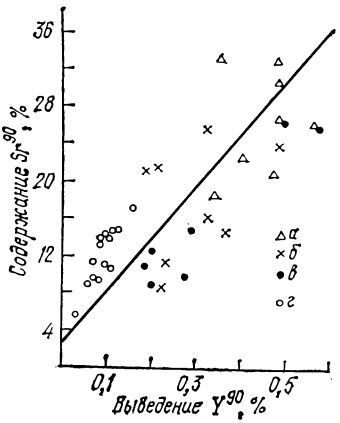
По обоим показателям была получена удовлетворительная оценка. Так, выделение иттрия с калом в течение первых трех суток составило 96—106% от введенного. (Естественно, что выделяемый с калом иттрий в последующие сроки генерируется всосавшимся стронцием.) Кроме того, у забитых через пятеро суток после начала опыта крыс содержание иттрия-90 в бедренной, а также в большой берцовой костях составляло 76,7% от содержания в них стронция-90 при расчетном 75%-ном достижении равновесия. Хороший баланс (97,4±1,08%) был получен также по стронцию-90 у восьми крыс, которые до момента забоя находились в обменных клетках.

Из сказанного следует, что наблюдавшиеся в опыте существенные различия содержания стронция у отдельных крыс обусловлены не случайными методическими ошибками, а неодинаковой степенью его всасывания из желудочно-кишечного тракта. Это позволило сопоставить выделение и содержание излучателя в организме в более широком диапазоне.

Выведенное комплексоном количество иттрия с мочой за 64-е сутки (0,034—0,158) превышает в среднем в 5,5 раза естественное выделение стронция (0,008—0,032). Это отношение уменьшается к более ранним срокам (4,8 — на 16-е сутки, 2,5 — на 8-е сутки), а на 3-и сутки, когда из резорбированного стронция накопилось лишь около 60% дочернего продукта,

Отношение содержания стронция-90 в организме крысы к суточному количеству естественного выделения его с мочой (1) или к выводимому комплексоном ДТПА дочернему иттрию-90 (2)

№ п. п.	3-й день		8-й день		16-й день		64-й день	
	1	2	1	2	1	2	1	2
1	56,85	64,55	208,79	79,62	199,26	55,30	723,4	135,22
2	44,57	95,50	189,23	49,67	267,19	47,21	580,73	110,27
3	47,46	70,69	212,06	97,28	211,91	50,80	717,29	130,42
4	56,88	56,88	324,69	108,23	322,50	63,86	956,29	139,46
5	98,96	47,71	112,93	50,15	263,88	58,33	457,06	123,95
6	57,25	57,25	73,14	41,20	301,61	37,14	549,52	151,84
7	47,22	46,20	153,18	48,44	241,95	48,39	813,71	109,54
8	36,70	55,04	94,38	42,29	—	—	733,00	136,54
9	—	—	—	—	—	—	981,79	132,16
10	—	—	—	—	—	—	551,00	97,52
11	—	—	—	—	—	—	1051,85	147,03
12	—	—	—	—	—	—	497,85	114,45
13	—	—	—	—	—	—	768,67	137,67
14	—	—	—	—	—	—	713,75	167,94
Среднее	55,74±6,70	61,73±5,60	171,05± 28,73	64,49±9,36	258,33± 16,91	51,58±3,27	721,14±49,25	131,0±5,0



Зависимость выведения иттрия-90 с мочой от содержания в организме стронция-90 после инъекции комплексона ДТПА на 3 (*а*), 8 (*б*), 16 (*в*) и 64-й (*г*) день.

комплексон выводит даже несколько меньше иттрия (0,443±0,026), чем выделяется естественным путем стронция (0,554±0,041). Таким образом, выделяемое количество стронция не очень уступает в течение опыта выводимому данной дозой комплексона иттрию. Поэтому, казалось бы, безразлично, что взять в качестве оценки содержания стронция в организме. Преимущество отношения «стронций организма — иттрий мочи», по нашему мнению, состоит в том, что оно остается примерно на одном уровне, хотя бы в течение первых 16 суток с момента инкорпорации (в среднем между 51,58±3,27 и 64,49±9,36), в то время как отношение «стронций организма — стронций мочи» прогрессивно возрастает: 55,74—171,05—258,33—721,14 (см. таблицу). Коэффициенты вариации к усредненным отношениям по стронцию и иттрию различаются несущественно.

Причина постоянства отношения «стронций организма — иттрий мочи» в первые 16 суток сложна: с одной стороны, идет накопление дочернего продукта до установления радиоактивного равновесия стронция-90 — иттрия-90, с другой стороны — снижение доступности иттрия для комплексона. Полученные в разные сроки после инкорпорации стронция-90 — иттрия-90 данные мы попробовали уложить в единую зависимость (см. рисунок), на основании которой регрессионным анализом рассчитано уравнение прямой, отображающей отношение «стронций организма — иттрий мочи» после инъекции комплексона: $Sr_{орг}=58Y_{мо}+2{,}5$. Таким образом, в течение первых двух недель после инкорпорации содержание стронция-90 в организме будет примерно в 60 раз выше, чем количество выведенного комплексоном иттрия.

Естественно, что полученная зависимость не может быть непосредственно перенесена на другие дозы комплексона, иной способ инкорпорации, на другие виды животных, а также на человека.

Выводы

1. Прослежено соотношение между содержанием стронция-90 в организме и выделением его, а также дочернего иттрия-90 после инъекции комплексона ДТПА.

2. В течение первых двух недель отношение «стронций организма — иттрий мочи» сохраняется постоянным, в то время как отношение «стронций организма — стронций мочи» прогрессивно возрастает.

3. При инкорпорации радиостронция можно судить о его количестве в организме по величине выведения комплексоном иттрия с мочой.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. М. Расин, И. Я. Панченко, И. А. Сарапульцев, Н. И. Буров. Радиоактивные изотопы и организм. М., «Медицина», 1969, 63.
2. Удостоверение о регистрации метода № 24901, 1961.
3. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.
4. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Там же, 1957, вып. 9, 20.
5. И. П. Трегубенко, Д. И. Семенов, Е. И. Сухачева, Г. А. Меньшикова, М. Н. Белова, Э. А. Тарахтий. Теоретические вопросы минерального обмена. Труды Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР, 1970, вып. 68, 81.
6. И. П. Трегубенко, В. Г. Яшунский, Д. И. Семенов. Биохимия, 1961, **26**, вып. 1, 177.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.014.461+612.015.31 : 621.039.85 : 612.35 : 616.36

А. В. БАЖЕНОВ

ОБМЕН РАДИОИТТРИЯ В ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Одна из особенностей иттрия-91 — резкое различие в накоплении его в печени в зависимости от вводимой весовой дозы [1], что связано с различным физико-химическим состоянием иттрия в крови. Исследование механизмов обмена инкорпорированных изотопов на целостном организме имеет определенные трудности, связанные с конкурентным действием других органов и тканей, поэтому мы изучали обмен иттрия в модельном эксперименте — на изолированной переживающей печени крыс. Эта модель дает возможность варьировать физико-химическими параметрами перфузионной жидкости. Настоящая статья посвящена изучению обмена иттрия в зависимости от весовой дозы и от формы поступающего в перфузируемую печень металла.

Материал и методика. Перфузионные среды готовили следующим образом.

1. В 30 *мл* гепаринизированной крови (600—900 ед. гепарина) вносили 0,5 *мл* раствора (pH 2), содержащего 3 *мккюри* хлористого иттрия-91 без или со 100 *мкгмолями* изотопного носителя, инкубировали 5 *мин* при 37—38° С, затем разбавляли раствором Тироде до общего объема 60 *мл*. Конечный pH среды 7,35—7,45.

2. Иттрий-91 без носителя вносили в 60 *мл* физиологического раствора (0,9% NaCl), pH которого доводили до 2—3. Указанные среды заливали в аппарат для перфузии, прокачивали в течение 15—20 *мин* для установления равновесия между перфузионным раствором и стенками системы (стекло, силиконовые и полиэтиленовые трубки), а затем готовили пробы для эталона внесенной активности. Условия: перфузионное давление 180—200 *мм* водного столба, объемная скорость перфузии 1,5 *мл/мин* на грамм сырой ткани печени, температура в перфузионной камере 38° С, постоянная оксигенация перфузата

Накопление иттрия-91 печенью при ее перфузии в течение 2 *ч*

Перфузионная среда	Время, *мин*			
	5	10	15	30
Физиологический раствор+иттрий невесомый	—	—	22,8±0,5 (2)*	41,3±6,0 (4)
Кровь+100 *мкгмолей* иттрия	16,8±2,3 (2)	16,9 (1)	25,7±1,6 (4)	36,0±4,1 (4)
Кровь+иттрий невесомый	10,9±1,7 (3)	16,6±3,8 (3)	19,1±2,2 (5)	19,5±2,8 (5)

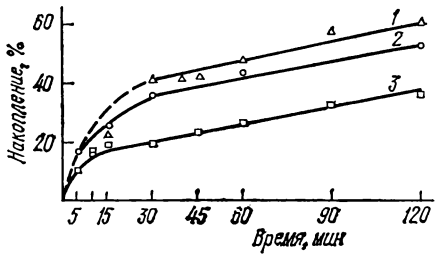
Перфузионная среда	Время, *мин*			
	45	60	90	120
Физиологический раствор+иттрий невесомый	41,4±7,1 (3)	47,7±5,7 (4)	57,4±1,3 (3)	60,0±2,9 (3)
Кровь+100 *мкгмолей* иттрия	—	43,5±5,6 (5)	—	52,5±3,1 (4)
Кровь+иттрий невесомый	23,5 (1)	26,1±2,4 (5)	32,5±4,1 (3)	35,4±2,9 (3)

* В скобках — количество повторностей на точку.

смесью газов (95% O_2+5% CO_2). Функциональное состояние печени оценивали бромсульфалеином (БСФ) по методике, описанной ранее [2]. Донорами печени и крови были 8—9-месячные крысы весом 300—350 *г* линии Вистар стадного разведения. Ишемия печени при ее изолировании и подключении к аппарату длилась 2—4 *мин*.

Изменение радиоактивности перфузата, отражающее динамику накопления Y^{91} в печени, прослеживали путем периодического отбора проб из резервуара, где происходит перемешивание крови («венозной» с «шунтированной»); кроме того, после перфузии производили радиометрию образцов печени. Сумма активностей печени и перфузата позволяла оценить корректность проведения опыта и расчетов. Радиометрию проводили торцевым счетчиком БФЛ-25. Результаты опытов после внесения необходимых поправок выражали в процентах баланса, составлявшего 98±1,7% от внесенной в систему метки.

Результаты и обсуждение. При перфузии печени разведенный кровью остаток краски (БСФ) ко второму часу составил



Накопление иттрия-91 в перфузируемой печени крыс.

Перфузионная среда: *1* — физиологический раствор + иттрий-91 невесомый, *2* — кровь + + иттрий-91, 100 *мкгмолей*, *3* — кровь + иттрий-91 невесомый.

10—15%, что свидетельствует об удовлетворительном функциональном состоянии переживающей печени. При перфузии физиологическим раствором функциональная проба не применялась, поскольку БСФ транспортируется в печень белками сыворотки крови (см. таблицу).

Кривая *1* на рисунке характеризует поглощение металла из физиологического раствора (pH 2—3, через 5 *мин* перфузии pH повышается до 6—6,5). Известно [3], что в данных условиях невесомый иттрий находится в основном в ионной форме, не исключено наличие слабо гидролизованных форм металла. Данная кривая отражает быстрое накопление ионной формы и гидратов в первые 30 *мин*, а затем медленное поглощение ионной формы металла, оставшегося в перфузионной жидкости в виде микроколичеств. При перфузии печени кровью с заведомо высокой концентрацией излучателя (100 *мкгмолей*) наблюдается тот же эффект (см. рисунок, кривая *2*). Несколько меньшая скорость накопления определяется более прочными связями иттрия компонентами крови по сравнению со «свободным» иттрием в физиологическом растворе. Микроколичества иттрия представлены в крови в виде различных фракций [4]. Накопление небольшого количества гидролизованных ионов иттрия происходит быстрее (по сравнению со 100 *мкгмолями*) и заканчивается к 10—15-й минуте (см. рисунок, кривая *3*), в дальнейшем идет накопление за счет ионной формы иттрия, снимаемой печенью с биолигандов крови.

Основная доля крупных коллоидных частиц захватывается печенью сразу же при первом прохождении через интактную печень [5], или уже к 20-й минуте захватывается около 100% коллоидной формы церия-141 при pH 8 перфузируемой печенью крыс [6]. Наши дополнительные опыты с гидролизованной формой иттрия (10 *мкгмолей* вводили в раствор Тироде, а затем добавляли кровь) показывают, что уже на 5-й минуте в печени находится 90% излучателя, а затем оставшаяся часть иттрия медленно накапливается в печени, достигая плато к 45-й минуте — 98 и 99% к концу 2-го часа перфузии.

Таким образом, быстрое накопление Y-91 в печени в первые минуты определяется физико-химическим состоянием металла в перфузионной жидкости. Кроме того, двухфазный характер кривых (и для микроколичеств иттрия, введенных в кровь, см. рисунок, кривая *3*) означает разную микролокализацию иттрия

в печени (молибден в печени находится в двух белковых фракциях, [7]). Возможно, что вместе с захватом иттрия клетками РЭС параллельно протекает и более медленный процесс накопления ионной формы иттрия, по-видимому, собственно печеночными клетками, хотя в работе [6] автор показал, что полимерные формы лантаноидов откладываются не в купферовских клетках, как считалось до сих пор, а в гепатоцитах. Этот вопрос требует экспериментальной проверки.

Накопление иттрия в перфузируемой печени крыс носит двухфазный характер (независимо от дозы), что связано, по-видимому, с различной микролокализацией изотопа в органе, а скорость поглощения зависит от физико-химического состояния поступающего металла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.
2. А. В. Баженов. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып. 89, 102.
3. G. Biederman, L. Ciavatta. Arkiv. Cemi., 1964, **22**, N 3—4, 253.
4. Н. В. Микшевич, Е. И. Сухачева. Радиобиология, 1973, № 13, 469.
5. E. L. Dobson, J. W. Gofman, H. B. Jones, L. S. Kelly, L. A. Walker. J. Lab. Clin. Med., 1949, **34**, 305.
6. V. Slouka. Health Phys. Probe. Intern. Contamin. Proc. IRPA 2nd Eur, Congr. Radiat Protect., Budapest, 1972. Budapest, 1973, 357.
7. Н. С. Швыдко, Л. А. Ильин, Д. К. Попов. Гигиена и санитария, 1973, № 8, 51.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Е. И. СУХАЧЕВА, И. П. ТРЕГУБЕНКО,
Д. И. СЕМЕНОВ

ВЛИЯНИЕ ВЕСОВОЙ ДОЗЫ НОСИТЕЛЯ НА ПОВЕДЕНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМЕ

Влияние изотопных и неизотопных носителей на поведение микроколичеств радионуклидов в различных системах, начиная с водных растворов и вплоть до животного организма, неоднократно рассматривалось в литературе. В медикобиологическом аспекте этот вопрос подробно обсуждался Стокингером [1] и Качем [2]. На бериллии [3—5], серебре [6], церии [7], свинце [8—10], тории [11, 12] показано, что высокие дозы накапливаются преимущественно в органах ретикулоэндотелиальной системы, а отложение в костной ткани при этом падает.

Особое внимание было уделено радиоактивному иттрию [2, 13—18]. Авторы по-разному объясняют интерес к этому элементу. Нам кажется, что иттрий, помимо практического значения (один из важнейших продуктов расщепления ядра урана, источник излучения при тканевой бета-терапии), представляет и теоретический интерес. Он обладает способностью образовывать в условиях организма, с одной стороны, высокоустойчивые комплексные соединения (с биолигандами и искусственными хелатирующими комплексонами), с другой — гидроокиси разной дисперсности в зависимости от создаваемой в крови концентрации.

Если в более ранних работах[1] Кача и сотрудников [2, 16] основной причиной изменения поведения иттрия с увеличением дозы изотопного носителя считалось образование им коллоидов гидроокиси в кровяном русле, захватываемых ретикулоэндотелиальными клетками, то в исследованиях Зайделя с соавторами [18] показано наличие в крови нескольких фракций весомого иттрия, в том числе и белково-комплексного. Вопрос о

[1] Исследования проведены в 1950—1951 гг., но не были опубликованы.

белковых комплексах иттрия не раз поднимался в литературе, но даже о невесомых количествах излучателя данные неоднородны [19].

Все упомянутые авторы изучали влияние изотопного носителя, за исключением [12], где прослежено также воздействие неизотопного носителя — церия — на поведение тория в организме. Сюда же можно отнести работы по влиянию гидроокисей стабильного циркония на судьбу плутония [20, 21], радиоиттрия [21], а также по влиянию кальция и других металлов на обмен радиостронция [22, 23].

Мнения о влиянии изотопного носителя на скорость выделения излучателя из организма противоречивы. Так, Кач [2, 24] утверждает, что снижение отложения иттрия-90 в скелете в присутствии изотопного носителя компенсируется повышенным накоплением его в печени, так что при всех дозировках содержание излучателя в организме остается одинаковым. При этом отмечено преобладание выделения иттрия с калом [25, 26], против чего возражают Гензике и Шподе [17], и снижение экскреции с мочой [17, 24].

Нами была поставлена цель проследить за изменениями поведения свободного от носителей иттрия-91, вызываемыми добавлением разных концентраций изотопного, а также неизотопных носителей к инъецируемому внутривенно раствору. Такие исследования продиктованы несколькими причинами. С одной стороны, важно знать, оказывают ли примеси стабильных металлов, присутствующие в растворе радиоизотопа, влияние и в каком направлении на его судьбу в столь тонкой системе, как организм. Для осколочного иттрия это прежде всего гидроокись железа, используемая при его выделении из маточного раствора, а также цирконий — стабильный дочерний продукт, концентрация которого, естественно, увеличивается с «возрастом» раствора. С другой стороны, можно попытаться «направить» и «удержать» в течение нужного срока в определенном органе радиоиттрий, предназначенный для бета-терапии. Наконец, исследование факторов, способных изменить обычную судьбу того или иного вещества в организме, позволяет судить о механизмах, определяющих его метаболизм.

Работ по влиянию неизотопных носителей на поведение иттрия нет. Вместе с тем такие исследования позволяют проследить за интересной зависимостью, а именно, за соответствием между поведением носителя и определяемого им поведения излучателя. Наличие параллелизма недвусмысленно говорило бы о сопряженном с носителем осаждении излучателя в коллоидную фракцию. Причем если pH инъецируемого раствора достаточно низок, чтобы предотвратить образование гидроокисей еще в пробирке, такое сопряженное выпадение коллоидных частиц должно происходить в кровяном русле.

В качестве неизотопных носителей были выбраны железо

Таблица 1

Влияние дозы изотопного и неизотопных носителей на распределение иттрия-91

Доза носителя на крысу, *г-моль*	Носитель	Колич. крыс	Печень	Селезенка	Почки
0,00	—	22	10,17±0,58	0,17±0,01	3,84±0,32
10^{-9}	Цирконий IV . . .	5	9,75±0,48	0,14±0,03	2,60±0,32
10^{-8}	Иттрий	5	25,43±1,17	0,49±0,03	4,77±0,78
	Цирконий IV . . .	5	9,03±0,55	0,26±0,08	3,11±0,46
	Железо III	3	16,27±0,06	0,27±0,04	3,02±0,44
	Цинк	5	6,95±0,19	0,18±0,02	3,08±0,47
10^{-7}	Иттрий	5	45,47±0,98	0,75±0,05	3,50±0,40
	Цирконий IV . . .	5	21,75±2,49	0,66±0,16	2,73±0,28
	Железо III	3	12,27±1,62	0,43±0,17	3,86±0,13
	Цинк	5	6,86±0,69	0,14±0,01	2,55±0,25
10^{-6}	Иттрий	5	62,40±1,68	3,15±0,43	2,81±0,24
	Цирконий IV . . .	5	43,33±0,97	2,09±0,34	2,16±0,31
	Железо III	3	30,04±3,07	0,89±0,09	2,86±0,08
	Хром III	4	9,76±0,91	0,23±0,02	2,41±0,18
	Цинк	5	8,43±0,56	0,21±0,03	2,73±0,35
10^{-5}	Иттрий	5	69,42±1,64	3,74±0,16	0,57±0,03
	Цирконий IV . . .	5	69,99±1,93	4,99±0,45	1,09±0,29
	Железо III	3	52,68±1,48	3,76±0,80	1,77±0,07
	Хром III	4	42,12±2,87	2,50±0,30	1,46±0,12
	Цинк	5	6,10±0,31	0,20±0,03	2,92±0,42
$2{,}5\cdot10^{-5}$	Хром III	4	65,79±6,80	5,17±0,56	0,71±0,12
$5\cdot10^{-5}$	Хром III	4	54,66±3,68	7,08±0,92	0,63±0,09
10^{-4}	Хром III	4	53,36±2,16	7,35±0,86	0,97±0,18

Примечание. Результаты даны в процентах от баланса, составляющего 102,663±

в организме крыс

Легкие	Скелет	Остаток тушки	Моча	Кал	Кровь
0,21±0,01	52,31±1,68	17,16±1,38	14,96±0,64	1,18±0,17	0,14±0,01
—	42,82±2,85	20,81±2,85	22,35±2,18	1,53±0,38	0,16±0,016
0,20±0,02	41,44±2,38	16,32±2,26	10,76±0,83	0,59±0,09	0,20±0,02
—	41,89±3,42	32,68±3,90	11,50±1,28	1,53±0,30	0,20±0,03
0,17±0,01	50,12±1,19	13,92±4,72	14,35±1,73	1,88±0,46	0,15±0,05
—	52,51±1,41	21,05±1,98	14,23±0,84	2,00±0,57	0,22±0,02
0,17±0,01	29,85±1,34	12,22±1,51	6,83±1,11	1,21±0,24	0,24±0,03
—	38,91±3,25	16,44±2,27	18,28±0,95	1,23±0,14	0,18±0,01
0,25±0,03	42,04±3,39	23,84±1,58	16,06±1,90	1,25±0,64	0,14±0,03
—	51,92±4,89	21,40±6,68	15,59±1,78	1,54±0,50	0,20±0,01
0,51±0,03	14,71±0,65	13,30±1,32	1,34±0,27	1,78±0,49	0,48±0,12
—	24,36±0,20	10,60±0,59	15,80±0,94	1,66±0,30	0,34±0,02
0,19±0,02	37,46±1,69	15,58±1,60	11,79±0,27	1,19±0,22	0,24±0,01
0,23±0,02	49,42±1,72	11,38±2,25	24,23±1,23	2,34±0,61	0,47±0,12
—	55,20±2,47	20,36±2,68	11,20±1,60	1,87±0,26	0,22±0,02
0,52±0,06	8,55±0,40	16,45±1,32	0,20±0,07	0,55±0,13	1,09±0,46
—	10,34±1,11	7,47±0,58	4,95±1,08	1,17±0,21	0,20±0,02
0,22±0,02	19,54±1,32	15,52±1,82	5,94±1,82	0,57±0,07	0,18±,0,03
1,10±0,22	22,67±1,82	10,28±1,01	18,60±1,49	1,27±0,14	1,72±0,19
—	52,14±2,42	23,70±2,55	13,34±1,99	1,60±0,29	0,20±0,02
1,38±0,39	9,88±1,93	9,54±1,07	6,63±2,76	0,90±0,36	1,64±0,25
8,84±2,56	12,67±1,58	7,75±0,38	7,87±1,34	0,50±0,08	1,62±0,20
5,89±0,94	8,97±0,81	19,07±0,89	3,52±0,24	0,87±0,19	3,85±0,44

0,996% от введенной дозы иттрия-91. Кровь входит в баланс в составе тканей.

и цирконий (по уже указанным причинам), хром (содержание его в растворах радиоиттрия достигает порой 0,03 *мг/мкюри*), т. е. элементы легкогидролизующиеся, а также практически не образующий гидроокисей при pH крови цинк. Параллельно прослеживали дозную зависимость поведения самих носителей (за исключением циркония), меченых их радиоизотопами.

Таким образом, можно было сопоставлять: 1) дозные зависимости поведения хрома, железа, цинка, иттрия; 2) влияние разных доз этих элементов, а также циркония на обмен невесомого радиоиттрия; 3) судьбу радиоиттрия с судьбой добавляемых к нему носителей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Самкам белых лабораторных крыс 5—8-месячного возраста (средний вес 214±8 *г*) инъецировали в отпрепарированную хвостовую вену по 0,4 *мл* раствора хлорида или азотнокислого иттрия-91 (примесь трехвалентного железа не превышала 10^{-7} *г·моль* на крысу) без или с добавкой соответствующей соли изотопного или неизотопного носителя марки х. ч.: хлоридов железа, цинка (от 0,01 до 10 *мкгмолей*), четырехвалентного циркония (от 0,001 до 10 *мкгмолей*) или азотнокислого хрома (от 0,01 до 100 *мкгмолей* на крысу). В опытах по поведению самих носителей в зависимости от дозы внутривенно инъецировали растворы их радиоизотопов: хлорид железа-59, азотнокислый хром-51, сернокислое железо-59, хлорид цинка-65 с добавками соответствующей соли стабильного металла. Вводимые растворы имели pH 1—2; дозы излучателей составляли 3—5 *мккюри* на крысу.

Животных содержали в обменных клетках, мочу и кал собирали раздельно, через 24 *ч* крыс умерщвляли под эфирным наркозом перерезкой брюшной аорты и полой вены. Печень, почки, легкие, селезенку, а также кал высушивали при 100° С до постоянного веса, остаток тушки и бедренную кость озоляли при 600° С, растирали в порошок, из которого готовили пробы на стандартных алюминиевых тарелочках. Мочу вместе со смывами с клеток (≃0,5 *л* 0,1%-ного раствора ЭДТА) упаривали до объема 15—30 *мл*, готовили по две пробы по 1 *мл*, высушивали под инфракрасной лампой. Пробы крови по 0,3—0,5 *мл* отбирали шприцем из полой вены, высушивали на воздухе. Принимали, что вес крови составляет 6,1% от веса тела, а скелета — 20-кратный вес бедренной кости.

Бета-излучение образцов тканей и выделений радиометрировали торцевым счетчиком БФЛ Т-25 (толщина слюды 2 *мг/см*^{2}), гамма-излучение — сцинтилляционным детектором NaI (Tl) 39×40 *мм*. После внесения поправки на самопогло-

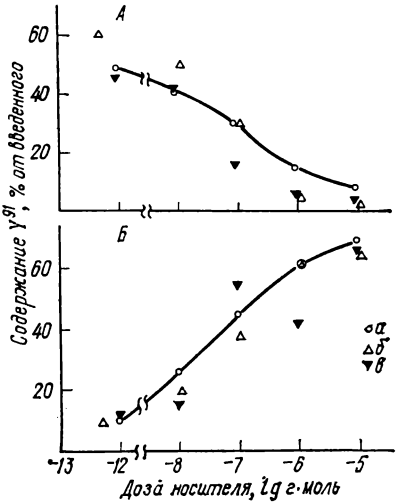


Рис. 1. Отложение иттрия-91 в скелете (*А*) и печени (*Б*) в зависимости от весовой дозы.

а — собственные данные, *б* — данные [25], *в* — данные [18].

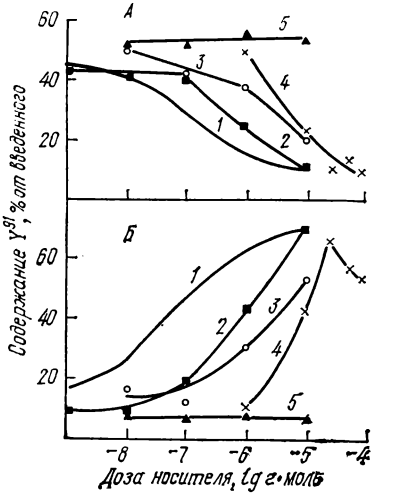


Рис. 3. Отложение невесомого иттрия-91 в скелете (*А*) и печени (*Б*) в зависимости от дозы носителя.

1 — иттрий, *2* — цирконий, *3* — трехвалентное железо, *4* — трехвалентный хром, *5* — цинк.

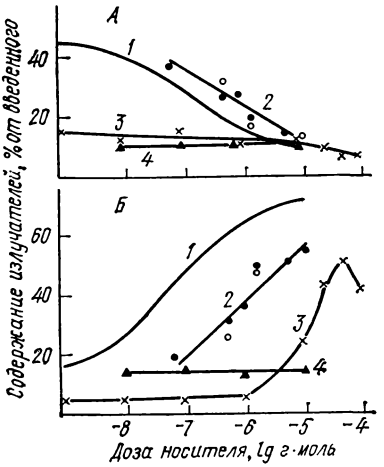


Рис. 2. Зависимость отложения иттрия (*1*), железа (*2*), хрома (*3*), цинка (*4*) в скелете (*А*) и печени (*Б*) от весовой дозы.

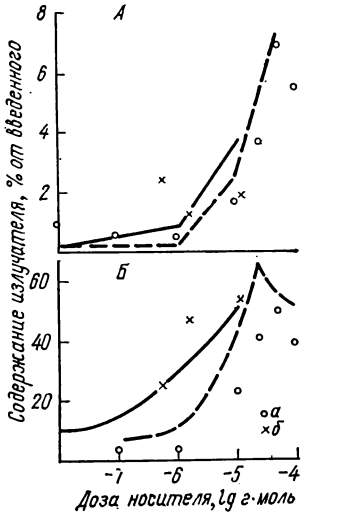


Рис. 4. Содержание в селезенке (*А*) и печени (*Б*) иттрия-91 в присутствии разных доз нитрата хрома (*штриховая линия*) или хлорида железа (*сплошная*), а также носителей, меченых радиоактивными изотопами.

а — хром-51, *б* — железо-59.

щение в слое навески для бета-излучателей рассчитывали в тканях и выделениях содержание радиоактивной метки (а не самого элемента) в процентах от баланса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение собственных и литературных данных по влиянию весовой дозы иттрия на его поведение в организме. С увеличением инъецируемой крысе внутривенно дозы иттрия от индикаторных, «невесомых» (10^{-12} *г·моль*) до 10^{-5} *г·моль* возрастает его накопление в печени и селезенке, а в скелете и почках соответственно снижается (табл. 1). Причем если при введении индикаторных количеств отложения иттрия в скелете более чем в 5 раз превышает отложение его в печени, то при дозе 10^{-5} *г·моль* наблюдается, наоборот, 8-кратное преобладание излучателя (или в целом металла) в печени. Подобная картина уже описана в литературе [18, 24] и, несмотря на то что время забоя животных после инкорпорации излучателя было разным (у Кача — 2 суток, у Зайделя с соавторами — 4 *ч*, у нас — 1 сутки), экспериментальные результаты хорошо совпадают (рис. 1). Можно лишь отметить более S-образную по сравнению с нашей форму кривой в работе [24] как для скелета, так и для печени. Мы так же, как ранее Кач [24], наблюдали плавное изменение отложения иттрия в печени во всем диапазоне доз (см. рис. 1) и не смогли заметить провала при дозе 10^{-6} *г·моль*, отмечаемого в работе [18]; возможно, этот провал проявляется лишь в ранние сроки.

Некоторая несогласованность цитируемых здесь работ касается суммарного содержания иттрия в основных органах-депо при разных дозах носителя. Сделанные нами расчеты (табл. 2) показывают, что по данным работы [24], где животные были забиты через 2 суток, суммарное содержание излучателя (печень+скелет) оставалось постоянным (65—70%), а по данным работы [18], через 4 *ч* после инкорпорации возрастало с увеличением весовой дозы, правда, с резким провалом при 10^{-6} *г·моль*. Мы наблюдали довольно плавное возрастание суммарного содержания с 62,5 до 78%; соответственно постепенно снижалось суточное выделение излучателя с мочой (см. табл. 1) с 15 в отсутствие носителя до 0,2% при дозе 10^{-5} *г·моль*,

Таблица 2

Суммарное содержание иттрия в печени и скелете при разных дозах изотопного носителя, % от введенного

Доза носителя, *г·моль*	Данные работы [24]	Данные работы [18]	Собственные данные
0	69,4	57	62,5
10^{-8}	65	57	66,9
10^{-7}	68,3	70,2	75,3
10^{-6}	67	47,8	77,1
10^{-5}	67,2	71,1	78,0

Примечание. Дозы носителя в работе [24] на 10% выше указанных в таблице. Из работы [18] взяты данные, относящиеся к 4-му часу после инкорпорации.

Таблица 3

Выделение «невесомого» и «весомого» иттрия с мочой и калом, % от введенного

Дни	Моча	Кал	Итого	Моча	Кал	Итого
	Без носителя*			Доза носителя $2{,}1 \cdot 10^{-6}$ *г·моль*		
1	13,86±0,62	0,77±0,10	14,63	0,55±0,03	1,92±0,57	2,47
2	1,61±0,09	0,96±0,12	17,20	1,33±0,01	5,35±0,26	9,15
3	0,62±0,02	0,49±0,04	18,31	0,90±0,08	2,68±0,72	12,73
4	0,39±0,04	0,28±0,03	18,98	0,60±0,02	2,20±0,24	15,53
5	0,33±0,03	0,38±0,05	19,69	0,46±0,02	1,92±0,55	17,91
6	0,24±0,01	0,39±0,04	20,32	0,50±0,02	2,50±0,32	20,91
7	0,20±0,01	0,30±0,02	20,82	0,40±0,02	4,00±1,09	25,31
Всего	17,25	3,57	—	4,74	20,57	—

* Средние от всех крыс, не получавших инъекции комплексона: 1—2-й дни — 25 крыс, 3—4-й дни — 17 крыс, 5—7-й дни — 13 крыс (см. работу [27], табл. 1).

тогда как выделение его с калом было примерно на одном уровне.

В связи с разногласиями в отношении путей преимущественного выделения разных доз иттрия, мы остановимся на данных опыта, в котором изучали выведение радиоактивности в течение недели у трех крыс после внутривенной инъекции иттрия-91 с примесью $2{,}1 \cdot 10^{-6}$ *г·моль* стабильного иттрия (табл. 3). Для сравнения мы приводим данные по «невесомому» иттрию из этого же опыта, но опубликованные нами ранее [27].

Из табл. 3, во-первых, видно, что весомые количества иттрия выводятся в отличие от невесомых преимущественно через желудочно-кишечный тракт. Это было отмечено уже ранее даже в более краткосрочных опытах [25, 26]. Возражение же Гензика и Шподе [17] обусловлено тем, что их опыт проведен в течение лишь одних суток, и, кроме того, они инъецировали радиоиттрий не внутривенно, а подкожно и внутрибрюшинно. Во-вторых, общее выделение с мочой и калом весомых количеств иттрия, вначале значительно менее интенсивное, постепенно догоняет выделение невесомого иттрия, а к концу недели уже превышает его. Такой тип экскреции напоминает поведение церия. Судя по всему, чем больше инъецированная внутривенно весовая доза иттрия, т. е. чем выше начальное накопление его в печени, тем интенсивнее должна быть экскреция с калом, тем раньше он обгонит по кумулятивному выделению индикаторные количества. Поэтому любые утверждения должны быть привязаны к конкретному случаю.

Интересно проследить за изменением соотношения отложения иттрия в печени и скелете с повышением дозы, так как плавность его свидетельствовала бы о довольно простой закономерности

Таблица 4

Влияние дозы изотопного носителя на поведение железа-59 в двух- и трех

Доза носителя, *г·моль*	Печень	Почки	Селезенка	Легкие
				Трехвалентное
$5{,}7\cdot10^{-7}$	25,40±1,29	1,79±0,30	2,32±0,54	0,86±0,11
$1{,}62\cdot10^{-6}$	47,28±1,34	3,33±0,14	1,26±0,09	0,48±0,04
$1{,}15\cdot10^{-5}$	55,18±2,44	2,12±0,16	1,80±0,44	0,64±0,19
				Двухвалентное
$7{,}8\cdot10^{-8}$	20,10±4,10	2,87±0,84	1,58±0,47	—
$5{,}7\cdot10^{-7}$	31,62±3,35	4,48±0,59	1,32±0,31	—
10^{-6}	36,26±5,59	3,86±0,64	1,13±0,43	—
$1{,}62\cdot10^{-6}$	49,72±1,86	3,51±0,27	0,45±0,10	—
$5{,}76\cdot10^{-6}$	50,52±2,78	3,93±0,12	0,60±0,15	—

Примечание. Результаты даны в процентах от баланса, составляющего 101,009

изменения физико-химического состояния элемента, допустим, обусловленного лишь размерами образуемых коллоидных частиц в крови. В наших опытах отношение печень : скелет составляло с ростом дозы 0,20; 0,61; 1,52; 4,23; 8,12, что в полном логарифмическом масштабе дает четкую прямую зависимость.

В области малых доз (до 10^{-7} *г·моль*) отложение иттрия-91 в легких держится на одном уровне, тогда как в селезенке нарастает примерно с той же скоростью, что и в печени; между 10^{-7} и 10^{-6} *г·моль* в селезенке и легких наблюдается резкий скачок, в отличие от плавно затухающего прироста радиоактивности в печени, а затем во всех трех органах прирост становится едва заметным. Отложение излучателя в почках с увеличением дозы снижается параллельно скелету, падает с еще большей скоростью выделение иттрия-91 с мочой. В остальных мягких тканях («остаток тушки») также наблюдается снижение отложения с 17,2—16,3 до 12,2—13,3%, хотя оно и не носит плавного характера; можно даже принять содержание радиоиттрия в остатке тушки более или менее постоянным при изменении дозы изотопного носителя.

Описанная картина подтверждает, что ретикулоэндотелиальная система разных органов селективно отбирает коллоидные частицы определенной крупности [28].

В противоположность резкому снижению выделения излучателя с мочой, концентрация радиоактивности в крови плавно возрастает с дозой; это хорошо коррелирует с данными о зависимости связывания иттрия белками плазмы от внутривенно инъецированной его дозы [18]. Такое сопоставление данных по моче и крови дает, по-видимому, основание считать, что первопричиной резкого падения выделения (более чем в 70 раз) в интервале доз

валентной форме

Скелет	Остаток мягких тканей	Моча	Кал	Кровь
железо				
31,56±5,99	36,62±4,56	0,43±0,05	1,02±0,16	25,61±5,14
16,58±1,69	29,46±3,24	0,63±0,16	0,98±0,20	10,16±1,64
11,87±0,15	27,34±3,58	0,38±0,02	0,67±0,09	6,37±0,71
железо				
37,78±3,73	36,26±2,02	0,32±0,01	1,14±0,13	23,63±7,28
26,19±5,39	34,80±2,62	0,51±0,18	1,08±0,12	9,66±2,38
27,42±3,75	29,88±2,68	0,27±0,00	1,18±0,20	11,03±3,05
17,96±1,98	26,86±0,75	0,48±0,07	1,02±0,30	2,96±0,58
14,25±0,41	27,29±2,54	1,68±0,69	1,73±0,36	3,51±0,42

±2,84% от введенного железа-59. Кровь входит в баланс в составе тканей.

10^{-12}—10^{-5} *г·моль* изотопного носителя является снижение фильтруемости иттрия через почечный барьер, а не ускорение его захвата тканями.

Влияние дозы изотопного носителя на поведение хрома-51, железа-59 и цинка-65. Значительное содержание стабильного изотопа в исходном растворе железа-59 (до 0,65 *мг* железа на 1 *мкюри*) не позволило охватить дозировки меньше $7{,}8 \cdot 10^{-8}$ *г·моль* на крысу; максимально же переносимая крысами при внутривенной инъекции доза двухвалентного железа составляла менее $6 \cdot 10^{-6}$ *г·моль*, а трехвалентного — чуть более 10^{-5} *г·моль*. Поэтому исследования по влиянию изотопного носителя на судьбу железа-59 охватывают меньший, чем в других случаях, диапазон доз (табл. 4). Наименее токсичным из включенных в данные исследования металлов оказался хром, что позволило испытать дозы до 10^{-4} *г·моль*; вместе с тем один из исходных растворов хрома-51 содержал низкие концентрации стабильного изотопа и других примесей, что дало возможность начать исследования с дозы 10^{-9} *г·моль* (табл. 5). Цинк-65 можно было испытывать в диапазоне 10^{-8}—10^{-5} *г·моль*.

По основным органам-депо хром и железо ведут себя аналогично иттрию при повышении инъецируемой внутривенно весовой дозы (рис. 2; для сравнения здесь и на рис. 3 нанесены кривые по иттрию, взятые из рис. 1). Различия сводятся к тому, что заметный прирост отложения в печени и падение в скелете начинаются при более высоких концентрациях: у железа — выше 10^{-7} (двух- и трехвалентное железо ведут себя одинаково), а у хрома — выше 10^{-6} *г·моль*; однако при дозах $5 \cdot 10^{-5}$—10^{-4} проявляется тенденция к снижению отложения хрома-51 в печени.

Таблица 5

Влияние дозы изотопного носителя на поведение хрома-51 в организме

Ткани, выделения	Дозы носителя на крысу, *г·моль*							
	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	$2{,}5\cdot10^{-5}$	$5\cdot10^{-5}$	10^{-4}
Печень	4,16±1,11	5,17±0,38	4,13±0,10	4,95±1,45	23,46±1,22	42,06±2,43	50,82±3,30	40,92±1,84
Почки	2,05±0,20	1,76±0,18	1,89±0,27	1,28±0,15	1,54±0,17	1,08±0,11	1,22±0,22	0,62±0,05
Селезенка	0,70±0,11	0,90±0,11	0,61±0,08	0,55±0,09	1,68±0,33	3,63±0,54	6,86±0,90	5,47±0,68
Скелет	13,46±3,13	11,66±2,40	14,40±1,12	10,13±1,19	9,84±1,23	8,51±2,31	5,43±1,48	5,58±0,94
Тушка	31,87±4,26	33,75±1,99	38,58±3,07	32,22±2,27	16,11±2,37	16,33±2,64	15,82±3,74	35,20±1,29
Моча	42,60±3,28	43,58±2,60	34,14±3,45	48,72±0,78	45,50±2,12	26,67±0,89	19,10±0,96	11,74±0,25
Кал	5,16±2,16	3,18±0,59	6,25±0,32	2,15±0,47	1,87±0,61	1,72±0,59	0,75±0,24	0,47±0,15
Кровь	7,65±1,10	8,33±0,74	7,79±0,41	4,58±0,49	3,18±0,35	3,05±0,49	1,98±0,46	1,24±0,30

Примечание. Результаты даны в процентах от баланса, составляющего 98,667±2,024% от введенного хрома-51. Кровь входит в баланс в составе тканей.

Существенны, однако, различия в других органах и тканях. Так, отложение двухвалентного железа, в противоположность иттрию, падает в селезенке с повышением дозы; трехвалентное железо, по которому мы располагаем лишь тремя дозировками в узком диапазоне, дает несистематические отклонения в селезенке и легких. Другой противоположностью иттрию является выраженное падение содержания Fe^{59} в крови с ростом инъецируемой дозы, причем трехвалентная форма при всех дозировках дает в 3 раза большие величины. Несистематичны изменения содержания обеих форм железа в почках (от 1,8 до 4,4%), кале (около 1% при всех дозах за исключением максимальных, где двухвалентное дает подскок до 1,7%, а трехвалентное — падение до 0,38%), а также трехвалентного железа в моче; у двухвалентного Fe^{59} заметен рост выделения с мочой при повышении весовой дозы (см. рис. 5). В сумме остальных мягких тканей отмечается прогрессирующее снижение радиоактивности с 36,6 до 26,9%.

По хрому, где данные достаточно обстоятельны, картина более систематична. В селезенке отмечается идентичный с печенью резкий прирост излучателя при дозах выше 10^{-6}, а затем и спад к 10^{-4} *г·моль*. Во всех же остальных тканях (легкие не исследовались) наблюдается снижение содержания хрома-51 с увеличением дозы носителя. Тут различия в сравнении с иттрием особо заметны. Если выделение иттрия с калом колебалось при разных дозах в обе стороны, то хром дает резкое последовательное падение с 6,25 до 0,47%. Снижение отложения в почках с 2 до 0,6% соответствует столь же выраженному уменьшению выделения хрома с мочой от 48,7 до 11,7%; стремительно падает, как и железа, содержание хрома-51 в крови, т. е. здесь мы не имеем той противоположной направленности изменений содержания в крови и моче, как у иттрия (см. рис. 5).

Отложение цинка-65 с увеличением дозы стабильного цинка практически не меняется в печени и скелете, примерно с одинаковой скоростью, но незначительно снижается в крови, почках, селезенке и остатке тушки, заметно возрастает выделение с мочой и калом (табл. 6).

Сравнение влияния изотопного и неизотопного носителей на поведение иттрия-91. В сравнении с изотопным носителем (стабильным иттрием) воздействие неизотопных хрома, железа, циркония на поведение иттрия проявляется в меньшей степени, а цинк вообще не оказывает эффекта. Более детальное рассмотрение показывает, что взаимоотношения между иттрием-91 и неизотопными носителями весьма сложны.

Естественно, что микроколичества добавляемого металла не влияют на судьбу излучателя — каждый ведет себя по-своему, а потому носителем можно принимать его лишь номинально. Очевидно, что воздействовать на поведение, т. е. стать истинно носителем, добавляемый элемент может только при тех концентрациях, при которых он образует фазу, способную адсорбировать

Таблица 6

Влияние дозы изотопного носителя на поведение цинка-65 в организме

Ткани, выделения	Доза носителя на крысу, *г·моль*			
	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
Печень . .	14,263±0,569	15,774±1,547	13,238±0,681	14,211±1,549
Почки . .	2,386±0,124	2,302±0,095	1,991±0,181	1,666±0,066
Селезенка	1,114±0,206	0,942±0,017	0,871±0,120	0,642±0,080
Скелет . .	10,087±0,774	10,873±0,218	10,148±0,259	13,144±0,589
Остаток тушки . .	63,275±2,516	64,537±0,685	60,402±1,292	52,926±1,955
Моча . .	0,597±0,090	0,764±0,137	0,839±0,152	2,988±0,436
Кал . . .	8,278±1,069	4,808±1,093	12,511±1,077	14,423±1,266
Кровь . .	2,382±0,115	2,314±0,124	2,036±0,039	1,774±0,051

Примечание. Результаты даны в процентах от баланса, составляющего 101,372±0,821% от введенного цинка-65. Кровь входит в баланс в составе тканей.

ионы излучателя или же увлекать его в осадок по принципу изоморфизма, т. е. когда происходит сопряженное осаждение. Можно ожидать, что носитель будет приближать поведение невесомого излучателя к собственному характеру распределения по тканям.

Исходя из полученных в эксперименте зависимостей можно приближенно выделить пограничные, пороговые дозы носителя, превышение которых ведет к изменению обычной для невесомого излучателя судьбы в организме (табл. 7). Такая концентрация в крови крысы создается при внутривенной инъекции простых солей хрома в дозах выше 10^{-6}—10^{-7}, железа — 10^{-7}—10^{-8}, циркония — 10^{-7}—10^{-9} и иттрия — 10^{-8} *г·моль* и менее. Цинк же не влияет на поведение иттрия-91. Такое расположение элементов по действенным концентрациям наводит на мысль о роли их ионных радиусов, которые, по разным авторам, составляют: Y^{3+} 0,93—1,06, Zr^{4+} 0,80—0,87, Fe^{3+} 0,67—0,73, Cr^{3+} 0,55—0,64 Å при координационном числе 6. Естественно, что из неизотопных носителей иттрий-91 для соосаждения предпочтет цирконий, имеющий более близкий ионный радиус, затем следуют железо и хром. По размерам иона (0,70—0,83 Å) цинк встраивается между цирконием и железом, однако, как видно из приводимых опытов, он даже при максимальных испытанных дозах не образует гидроокисных коллоидов в крови, а потому и не включен в общий ряд.

Можно видеть, что для разных тканей критические точки у одного и того же носителя смещаются, причем это смещение шире у циркония и иттрия. Очевидно, эти элементы образуют более разнообразные по размерам коллоидные частицы, избирательно захватываемые определенными тканями.

Таблица 7

Пороговые дозы носителя (—lg *г·моль*), выше которых меняется содержание излучателя в тканях и выделениях

Метка и носитель	Печень	Почки	Селезенка	Легкие	Скелет	Мягкие ткани	Моча	Кал	Кровь
Y^{91}+Y	<8	7	<8	7	<8	8	<8	—	<8
+Zr	8	9	9	—	7	7	6	—	7
+Fe (III)	7	6	8	—	8	≈	7	8	—
+Cr	6	7	6	6	6	7	7	6	7
+Zn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fe^{59}+Fe (II)	7	≈	7	—	7	7	6	—	7
+Fe (III)	7	≈	≈	≈	7	7	≈	7	7
Cr^{51}+Cr	6	5	6	—	6	5	5	6	6
Zn^{65}+Zn	—	7	8	—	—	6	6	6	7

Примечание. Знак (—) — нет изменений содержания, (≈) — изменения содержания не систематичны.

В общих чертах наблюдается корреляция в поведении носителя и транспортируемого им невесомого иттрия: отложение в печени (рис. 4, *Б*) и селезенке (рис. 4, *А*) хрома (кружочки) и невесомого иттрия-91 в смеси с хромом (*штриховая линия*) или железа (*крестики*) и иттрия 91 в смеси с железом (*сплошная линия*) в печени (см. рис. 4, *Б*). Правда, есть и несоответствия: увеличение отложения иттрия-91 в смеси с трехвалентным железом в селезенке (см. рис. 4, *А*, *сплошная линия*) при несистематических колебаниях относительного отложения самого железа (*крестики*), однако не следует забывать, что в абсолютном выражении накопление железа селезенкой возрастало примерно пропорционально инъецируемой дозе.

Интересно отметить, что железо, цинк и хром, т. е. биоэлементы, остаются к концу первых суток на высоком уровне в крови (рис. 5, *А*), который с повышением весовой дозы относительно, но не абсолютно снижается; иттрий же — чуждый организму элемент — дает незначительные концентрации (0,14% на всю кровь), причем они возрастают, хотя и непропорционально (с 0,14 до 1,09%) при изменении инъецируемой дозы от 10^{-12} до 10^{-5} (см. табл. 1. и рис. 5, *А*, кривая *5*). Цинк, железо и даже обладающий исключительной гидролизующей способностью четырехвалентный цирконий практически не изменили концентрацию иттрия-91 в крови (см. рис. 5, *А*, кривые *7—9*), тогда как хром (кривая *6*) резко повышал уровень излучателя в крови, причем с тем же наклоном, что и изотопный носитель — стабильный иттрий (кривая *5*).

Особо следует остановиться на кажущихся несоответствиях, например, повышении концентрации иттрия-91 в крови в присут-

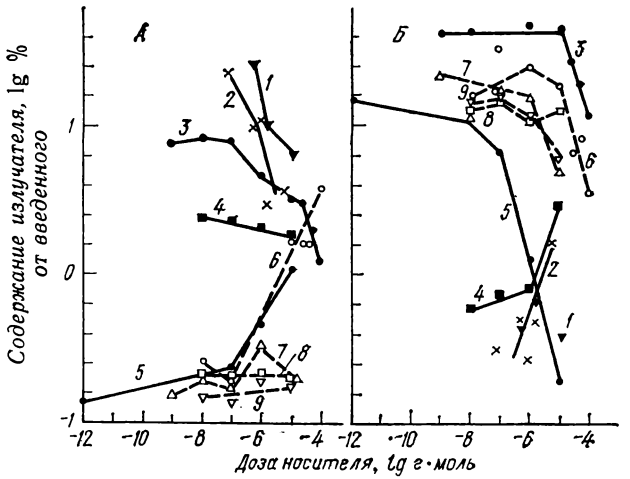


Рис. 5. Содержание излучателя в крови (*А*) и моче (*Б*) в зависимости от дозы изотопного (*сплошные линии*) или неизотопного (*штриховые*) носителя.

1 — $Fe^{59}+FeCl_3$; *2* — $Fe^{59}+FeSO_4$; *3* — $Cr^{51}+Cr(NO_3)_3$; *4* — $Zn^{65}+ZnCl_2$; *5* — $Y^{91}+Y(NO_3)_3$; *6* — $Y^{91}+Cr(NO_3)_3$; *7* — $Y^{91}+ZrCl_4$; *8* — $Y^{91}+ZnCl_2$; *9* — $Y^{91}+FeCl_3$.

ствии хрома, несмотря на относительное падение содержания самого хрома (см. рис. 5, *А*, кривые *6* и *3*), на значительном снижении (до 3,5%) выведения иттрия-91 с мочой максимальными дозами хрома, выделение которых достаточно высоко, до 12% (см. рис. 5, *Б*, кривые *6* и *3*). Очевидно, в крови иттрий-91 удерживают те частицы хрома, которые, с одной стороны, не выбывают в ткани, а с другой — все меньше фильтруются через почки; с повышением инъецируемой дозы хрома абсолютное содержание таких частиц в крови должно возрастать. Более же резкое против ожидаемого снижение выделения иттрия-91 с мочой объясняется как только что сказанным, так и увлечением излучателя в ткани частицами хрома определенных размеров, причем они несут на себе больше атомов иттрия-91, чем фильтрующиеся через почки (отложение иттрия-91 в селезенке и печени относительно выше, чем хрома, см. рис. 4), а выделение с мочой, наоборот, ниже (см. рис. 5).

Сравнение показывает, что в ряде тканей изменения содержания излучателя протекают параллельно во всем диапазоне испытанных доз носителя (Y^{91} + Zr в скелете, почках, остатке мягких тканей и в моче; Y^{91} + Y и Y^{91} + Fe в скелете и почках; Cr^{51} + Cr в печени и селезенке). Можно ли на основании этого считать, что «избираемые» данными тканями формы излучателя (ионная, гидроокисная определенного состава и крупности, другой физико-химический тип соединения) одинаковы? Мы мало

знаем о химической форме радионуклидов в крови и тканях. В основном выделяем ионную, связанную белками и коллоидную формы в плазме, а также сорбированную форменными элементами крови. Вполне вероятно, как на то указывают Зайдель с сотрудниками [18], что с белками крови могут связываться не только свободные катионы металла, но и его гидроокиси. Работами Добсона с сотрудниками [28] было показано, что ткани избирательно захватывают из крови коллоиды определенной крупности, однако каково отношение этих тканей к другим, помимо крупности, свойствам выбираемых частиц, известно мало. Потому работы в данной области как биологического, так и физико-химического аспектов весьма важны для расшифровки механизмов минерального обмена, не говоря уже о чисто практическом значении.

Выводы

1. Добавление изотопного носителя (в пределах 10^{-9}—10^{-5} *г·моль* и крысу) повышает накопление радиоактивного иттрия-91 в печени (с 10 до 70%), в селезенке (с 0,2 до 3,7%) и снижает в скелете (с 52 до 8,5%), в почках (с 3,8 до 0,6%). При этом резко падает начальное выделение излучателя с мочой (с 15 до 0,2%), замедляется и клиренс крови. Суммарное содержание иттрия-91 в основных органах-депо (печень, скелет) в первые сутки возрастает с дозой изотопного носителя (с 62 до 78%). В последующие дни весомый иттрий выделяется преимущественно с калом, причем относительно на более высоком уровне, чем невесомый. Вследствие этого кумулятивное выделение иттрия-91 с носителем с определенного срока (зависящего от дозы носителя) обгоняет выделение невесомого излучателя.

2. Сходное, но менее выраженное влияние оказывают изотопные носители на поведение хрома-51 и железа-59; на судьбе радиоактивного цинка-65 доза стабильного цинка практически не сказывается, заметно возрастает лишь выделение излучателя с мочой и калом.

3. Неизотопные носители в меньшей степени и по-разному воздействуют на поведение в организме невесомого иттрия-91. В ряде случаев наблюдается корреляция в обмене носителя и транспортируемого им иттрия-91. Зависимость степени воздействия неизотопных носителей от их ионных радиусов говорит о соосаждении иттрия-91 по принципу изоморфизма. При этом число адсорбированных ионов иттрия-91 зависит от величины коллоидных частиц носителя. Наблюдается селективный отбор их разными органами из кровяного русла.

ЛИТЕРАТУРА

1. H. E. Stokinger. Nucleonics, 1953, 2, N 4, 24.
2. A. Catsch. Dekorporierung radioaktiver und Stabiler Metallionen. Munchen, 1968, 8.

3. W. N. Aldridge, I. M. Barnes, F. A. Denz. The British. J. Exp. Path., 1949, **30**, 375.
4. J. K. Scott, W. F. Neuman, R. Allen. J. Biol. Chem., 1950, **182**, 291.
5. F. M. Klemperer, A. P. Martin, R. E. Liddly. Arch. Bioch. Biophys., 1952, **41**, 148.
6. J. K. Scott, J. G. Hamilton. Univ. Calif. Publ. Pharmacol., 1951, **2**, 241.
7. Ю. И. Москалев. Распределение, биологическое действие и миграция радиоактивных изотопов. М., Медгиз, 1961, **154**, 141.
8. P. Wolf, H. J. Born, A. Catsch. Strahlentherapie, 1943, **73**, N 3, 509.
9. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Комплексоны (синтез, свойства, применение в биологии и медицине). Свердловск, 1958, 75.
10. Д. И. Семенов, А. З. Кач, Г. И. Борн. Теоретические вопросы минерального обмена. М., «Наука», 1966, 5.
11. J. K. Scott, W. F. Neuman, J. Bonner. J. Pharmacol. Expt. Therap., 1952, **106**, 287.
12. А. З. Кач, Д. И. Семенов, Г. И. Борн. Теоретические вопросы минерального обмена. М., «Наука», 1966, 14.
13. G. Kyker, E. Cress, G. Gleason. Federat. Proc., 1954, **13**, 245.
14. Mac Donald, R. E. Nusbaum, G. V. Alexander, F. Ezmirlian, P. Spain, D. E. Rounds. J. Biol. Chem., 1952, **195**, 837.
15. R. Lewin, H. E. Hart. J. Greenberg, H. Spencer, K. Stern, D. Laszlo. Science, 1954, **119**, 880.
16. Д. И. Семенов. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1957, вып. 9, 4.
17. F. Gensicke, E. Spode. Zs. Naturforschg., 1961, **16 b**, N 3, 170.
18. A. Seidel, M. Vladar, V. Volf. Strahlentherapie, 1970, **140**, N 6, 717.
19. Н. В. Микшевич, Е. И. Сухачева. Радиобиология, 1973, **13**, № 3, 466.
20. И. П. Трегубенко. Обмен радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та биологии Урал. фил. АН СССР, 1966, вып. 46, 143.
21. J. Schubert, M. R. White. J. Biol. Chem., 1950, **184**, 191.
22. Б. М. Анненков. Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов. М., Атомиздат, 1966, 151.
23. А. Кач. Метаболизм стронция. М., Атомиздат, 1971, 262.
24. A. Catsch. Naturwiss., 1956, **43**, 242.
25. A. Catsch. Strahlentherapie, 1956, **99**, N 2, 290.
26. E. H. Graul, H. Hundeshagen. Strahlentherapie, 1958, **106**, 405.
27. И. П. Трегубенко, Д. И. Семенов. Теоретические вопросы минерального обмена. Труды Ин-та экологии растений и животных Урал. фил. АН СССР, 1970, вып. 68, 95.
28. E. L. Dobson, J. W. Gofman, H. B. Jones, L. S. Kelly, L. A. Walker. J. Lab. Clin. Med., 1949, **34**, 305.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Б. В. ПОПОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ МНОГОКАМЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ

При радиоизотопной диагностике, радиационно-гигиеническом нормировании, а также при изучении обмена эндогенных металлов возникает необходимость в анализе кинетики процессов транспорта изучаемого минерального элемента в целостном организме, т. е. в системе взаимосвязанных органов и тканей. Количество рассматриваемых отдельно органов и тканей, а также структура коммуникаций между ними задаются биохимическими и физиологическими особенностями обмена данного биоэлемента и анатомическим строением организма. Для решения подобных задач в исследованиях по минеральному обмену все более широко стали применяться методы математического моделирования.

В качестве теоретической основы такого моделирования чаще всего выступает метод «камерного анализа» [1—6], позволяющий на базе четко сформулированных принципов заменить изучаемый процесс кинетически эквивалентной моделью. Важно отметить, что количество камер в таких моделях, как правило, определяется числом экспоненциальных членов, которые удается выделить в экспериментально полученной для данного процесса «разгрузочной функции», и не превышает трех-четырех. При таком подходе структура связей между камерами первоначально неизвестна, и определение ее — самостоятельная задача. Если структуру модели можно определить на основании априорной информации (по анатомическому строению), то стандартные методики камерного анализа наталкиваются на серьезные затруднения. Во-первых, отдельные органы или ткани не всегда могут рассматриваться как обособленная камера, поскольку в камерном анализе под термином «камера» понимается кинетически однородная фракция вещества [3], тогда как с точки зрения процессов транспорта излучателя тот или иной орган может быть

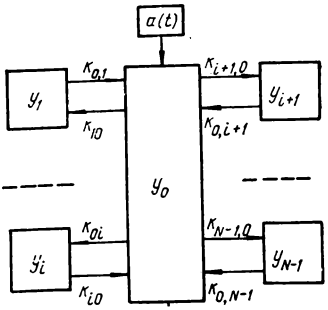


Рис. 1. Общий вид теоретической мамиллярной модели.

неоднороден и должен описываться моделью с числом камер $n>1$.

Во-вторых, анатомически различные органы могут обладать сходными кинетическими характеристиками, что приводит к эффекту «слипания камер» [5], т. е. в разгрузочной функции они будут представлены одним членом, а это делает невозможным однозначное определение «размеров» таких камер. И наконец, в-третьих, если число органов и тканей, которые необходимо выделить в модели, определяется их ролью в процессах обмена изучаемого элемента, то это число может значительно превосходить число экспоненциальных членов, которое уверенно можно выделить при разложении разгрузочной функции на сумму экспонент. Следовательно, попытка определения параметров таких моделей по одной только «разгрузочной функции» привела бы к переоценке информации, содержащейся в ней.

Однако ситуация меняется при наличии экспериментальных данных по поведению радиоактивной метки в интересующих нас органах. Такая дополнительная информация позволяет решить задачу определения параметров модели в два этапа.

На первом этапе определяются кинетические характеристики (параметры модели) каждого отдельного органа. Для этого экспериментальные результаты поведения меченого вещества в плазме крови (или во всей внеклеточной жидкости) описываются некоторым аппроксимирующим выражением $f(t)$. Выражение это может быть произвольного вида, но должно обеспечивать необходимую точность аппроксимации.

Такой прием позволяет представить обмен в каждом из рассматриваемых органов в виде простой камерной модели (с небольшим числом камер), поступление вещества в которую задается функцией $f(t)$ [7, 8].

Однокамерные модели органов. Процессы обмена меченого вещества между отдельными органами происходят главным образом через плазму крови и внеклеточную жидкость, поэтому большинство изучаемых объектов может быть представлено различными модификациями мамиллярной модели.

Рассмотрим случай, когда обмен меченого вещества в каждом органе может быть представлен однокамерной моделью. Для замкнутой мамиллярной модели с произвольным числом камер N (рис. 1) «математическая модель», по терминологии Аткинса [3], представляет собой систему линейных дифференциальных уравнений

$$\left.\begin{aligned}
&\frac{d}{dt}y_0=-y_0\sum_{i=1}^{N-1}k_{i,\,0}+\sum_{i=1}^{N-1}k_{0,i}\,y_i;\\
&\frac{d}{dt}y_1=k_{1,0}\,y_0-k_{0,1}\,y_1;\\
&\frac{d}{dt}y_{N-1}=k_{N-1,0}\,y_0-k_{0,\,N-1}\,y_{N-1};
\end{aligned}\right\}\qquad(1)$$

где y_i — содержание меченого вещества в i-й камере, $k_{i,j}$ — параметры модели, константы скорости переноса меченого вещества из j-й камера в i-ю. Если теперь точное аналитическое решение системы (1) для центральной камеры заменить аппроксимирующим выражением так, чтобы

$$y_0\approx f(t),\qquad(2)$$

то после подстановки выражения (2) в (1) система уравнений распадается на $N-1$ независимых уравнений вида

$$\frac{d}{dt}y_i=-k_{0,i}\,y_i+k_{i,0}\,f(t),\quad i=1,\ 2,\ \ldots,\ N-1.\qquad(3)$$

Отдельному уравнению вида (3) соответствует «теоретическая модель». Она представляет собой хорошо известный вариант однокамерной модели [9], поступление вещества в которую задается функцией $f(t)$. Общее решение уравнения (3) имеет вид

$$y_i(t)=k_{i,0}\exp(-k_{0,i}\,t)\int f(t)\exp(k_{0,i}\,t)dt+\beta\exp(-k_{0,i}\,t),\qquad(4)$$

где β — константа интегрирования. Если в качестве аналитического выражения для $f(t)$ выбрана сумма экспонент

$$f(t)=\sum_{j=1}^{m}A_j\exp(-\alpha_j t),\qquad(5)$$

то после подстановки (5) в (4) получим

$$y_i(t)=k_{i,0}\sum_{j=1}^{m}\frac{A_j}{k_{0,i}-\alpha_j}[\exp(-\alpha_j t)-\exp(-k_{0,i}\,t)].\qquad(6)$$

Следовательно, задача одновременного определения $2(N-1)$ параметров модели (1) свелась к решению $N-1$ задач определения двух параметров однокамерной модели (3). При этом надежность оценки параметров модели значительно возрастает.

Математическая модель (3) легко интегрируется, если $f(t)$ задана в явном виде, и следовательно, параметры модели k_{ij} могут быть определены традиционными аналитическими методами [3, 10]. При этом, как обычно при реализации вычислений на ЭЦВМ, существенная экономия машинного времени достигается,

если проведена предварительная оценка значений k_{ij}. Для этого, усреднив $f(t)$ на каждом заданном интервале времени $\Delta t_j = t_j - t_{j-1}$, можно получить приближенное решение уравнения (3) для каждого дискретного момента времени t_j:

$$y_i(t_j) = \bar{f}(t_j) \frac{k_{i,0}}{k_{0,i}} [1 - \exp(-k_{0,i}\, t_j)], \qquad (7)$$

где $\bar{f}(t)$ — усредненное по времени значение функции $f(t)$ на интервале $\Delta t_j = t_j - t_{j-1}$. При больших значениях t_j выражение в квадратных скобках стремится к единице, что позволяет найти отношение параметров $k_{i,0}/k_{0,i}$ и оценить значение $k_{0,i}$, если преобразовать уравнение (7) к виду

$$k_{0,i} = -\ln\left(1 - \frac{y_i(t_j)}{\bar{f}(t_j)} \frac{k_{0,i}}{k_{i,0}}\right) \Big/ t_j. \qquad (8)$$

Отметим, что полученные таким образом численные значения параметров носят характер нулевого приближения, поскольку точное решение уравнения (3) заменено приближенным (7). Вместе с тем подобный подход позволяет произвести оценку значений k_{ij} и в том случае, когда $f(t)$ задано таблично.

Модель органов с числом камер $n > 1$. Ввиду сложного, неоднородного гистологического строения отдельных органов, а также пребывания меченого вещества в данном органе в различных физико-химических состояниях не всегда удается представить обмен в таком органе в виде однокамерной модели. В этом случае могут быть использованы различные варианты многокамерных моделей, в которых по-прежнему поступление вещества задается функцией $f(t)$. Надежность оценки параметров, естественно, снижается, поэтому исследователи обычно ограничиваются простейшим вариантом модели с минимальным числом камер, обеспечивающим необходимую точность приближения расчетных кривых к экспериментальным результатам по поведению меченого вещества в данном органе [8].

Критерием степени приближения обычно служит сумма квадратов отклонений (СКО) расчетных кривых от экспериментальных. Эта оценка удобна еще и тем, что на ее основе возможен статистический анализ адекватности выбранной модели использованным экспериментальным данным на базе критерия χ^2 [8], либо критерия Фишера F [11]. Такой анализ позволяет сделать выбор между различными предложенными «теоретическими» моделями [8], разумеется, в пределах той точности, с которой получены экспериментальные результаты. Первый этап определения параметров всей модели заключается в своеобразном «разложении» ее на простейшие «элементарные» модели отдельных органов. Наличие экспериментальных данных по поведению меченого вещества в этих органах позволяет применить стандартную методику камерного анализа к этим элементарным моделям.

На втором этапе анализа производится «сборка» всей модели из составляющих ее «элементарных» моделей обмена отдельных органов. Если при изучении процессов обмена меченого вещества в целостном организме учесть количество поступающего и количество экскретируемого вещества, то такая система может рассматриваться как замкнутая, в которой выполняется закон сохранения вещества. Поэтому при «сборке» полной модели количество меченого вещества в центральной камере может быть найдено по уравнению баланса

$$y_0(t)+\sum_{i=1}^{N-1} y_i(t)+a(0)t, \qquad (9)$$

где $y_0(t)$ — содержание меченого вещества в центральной камере; $y_i(t)$ — расчетные значения содержания этого вещества во всех камерах «элементарных» моделей, включая и камеры экскреции; $a(t)$ — член, учитывающий поступление меченого вещества в систему.

Теперь аппроксимирующее выражение $f(t)$ для центральной камеры заменяется аналитическим решением для нее из полной модели y_0. Однако расчетные значения $y_i^{\text{р}}$ не совпадают с экспериментальными данными $y_i^{\text{э}}$, следовательно, и y_0 будет соответствовать $f(t)$ лишь приближенно. Это в свою очередь вызывает расхождение между соответствующими расчетными значениями y_i полной модели и полученными ранее решениями элементарных моделей. Отсюда следует, что основная задача второго этапа анализа полной модели — уточнение параметров модели для достижения наиболее полного соответствия между решениями, даваемыми полной моделью для центральной камеры y_0, и аппроксимирующим выражением для нее $f(t)$, т. е. фактически между расчетными и экспериментальными результатами для этой камеры.

В полной модели могут оказаться параметры, которые либо нельзя определить на первом этапе, либо можно определить только в комплексе с другими. Такая ситуация может возникнуть, например, в том случае, если «периферическая» камера мамиллярной модели имеет свой «сток» $k_{i+1,\,i}$ (рис. 2). Математическая модель для данного фрагмента имеет вид

$$\frac{d}{dt}y_i=k_{i,0}\ y_0-(k_{0,i}+k_{i+1,i})\,y_i;$$
$$\frac{d}{dt}y_{i+1}=k_{i+1,i}\ y_i. \qquad (10)$$

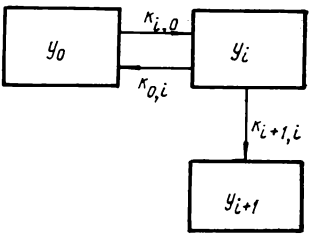


Рис. 2. Периферическая камера мамиллярной модели, имеющая отдельный «сток».

После подстановки функции $f(t)$ в первое уравнение системы (10) получим

$$\frac{d}{dt} y_1 = -\bar{k}_{0,1} y_1 + k_{1,0} f(t), \tag{11}$$

т. е. уравнение, аналогичное (3). Однако здесь

$$\bar{k}_{0,i} = k_{0,i} + k_{i+1,i}, \tag{12}$$

и на первом этапе можно найти только сумму параметров $k_{0,i}$ и $k_{i+1,i}$. Очевидно, что определение таких оставшихся неизвестными коэффициентов следует проводить так, чтобы добиться соответствия между y_0 и $f(t)$.

Если таким путем не удается достичь требуемого соответствия либо если на первом этапе определены все параметры модели, то их можно взять в качестве первого приближения для подгонки полной модели к совокупности экспериментальных данных. При этом необходимо учитывать, что отдельные y_i могут сильно отличаться по абсолютной величине. Поэтому частные СКО по каждому отдельному органу должны входить в общую СКО для всей модели (S) в виде относительных величин с учетом статистического «веса» каждой (p_i):

$$S = \sum_{i=0}^{N} p_i \sum_{j=1}^{M} [1 - y_i^p(t_j)/y_i^э(t_j)], \tag{13}$$

где двойное суммирование производится по всем камерам полной модели (N) и по всем моментам времени (M).

Таким образом, двухэтапный подход к определению параметров полной модели транспорта меченого вещества в системе взаимосвязанных органов и тканей позволяет, не нарушая аксиоматики камерного анализа, последовательно провести оценку параметров, характеризующих кинетику обмена в каждом органе, и на основании этих оценок построить полную модель для всего организма.

Методы определения параметров камерных моделей. Определение параметров камерных моделей — один из центральных разделов камерного анализа. Хотя принципиально количество камер в «теоретических» моделях неограничено [3], практически же используются лишь двух- и трехкамерные модели. Это связано с возможностью относительно несложного получения аналитического решения, что позволяет просто определить параметры модели. В ряде случаев оценки параметров можно получить простым переходом к предельным условиям.

Более сложные модели для определения параметров требуют и более сложных методов, что во многом ограничивает возможности их применения. Однако развитие вычислительной техники открывает новые возможности в этом направлении.

Традиционным методом определения параметров камерной модели является метод разложения «разгрузочной» функции на

сумму экспонент [11] и вычисление параметров k_{ij} по найденным значениям A_j и α_j. Для разложения на экспоненты можно применять графические методы [3], различные варианты аналитических методов [12—14], аналоговые и цифровые вычислительные машины [3, 5, 6, 15].

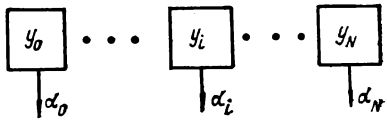


Рис. 3. Теоретическая модель несвязанных камер.

Однако все эти методы не позволяют выделить более трехчетырех экспоненциальных членов в силу неустранимой вариабельности экспериментальных данных, полученных на биологических объектах. Если функция $f(t)$ представлена суммой нескольких экспоненциальных членов (а это неизбежно для многокамерных моделей в рассматриваемом нами классе задач), то очевидна непригодность перечисленных методов для описанного двухэтапного подхода к определению параметров моделей. Кроме того, если сумма экспонент типа (5) является решением для математической камерной модели, то ее коэффициенты A_j и α_j имеют физический смысл лишь в единственном случае, когда камеры не связаны между собой и меченое вещество выводится из каждой со своей скоростью (рис. 3). Здесь A_j соответствует исходному количеству вещества в j-й камере, а α_j — константа скорости выведения вещества из j-й камеры. Во всех остальных случаях A_j и α_j не имеют непосредственного физического смысла, и следовательно, область их определения не ограничена. Непосредственный физический смысл для камерных моделей имеют лишь константы скорости переноса вещества между камерами k_{ij} и исходные либо стационарные концентрации вещества в камерах c_j. Поэтому, как отметил Беллман [10], в то время как каждый выбор k_{ij} и c_j дает набор A_j и α_j, не каждый набор A_j и α_j будет соответствовать физически допустимому набору k_{ij} и c_j, т. е. $k_{ij} \geqslant 0$, $c_j \geqslant 0$. Естественно поэтому при построении камерных моделей определять непосредственно параметры k_{ij}, что в силу взаимно-однозначного соответствия между k_{ij} и A_j и α_j [16] эквивалентно параметризации последних [10]. Такой подход приемлем и при «двухэтапном» определении параметров модели. Непосредственное определение параметров k_{ij} без предварительного аналитического интегрирования системы дифференциальных уравнений позволяет находить параметры для нелинейных математических моделей.

Существует два принципиально различных подхода к определению параметров камерных моделей. Общим для них является то, что критерием степени «подгонки» модели к экспериментальным результатам служит остаточная СКО, которую мы будем называть S_R.

В основе первого подхода лежит метод последовательных приближений Гаусса — Ньютона [2, 3, 15, 17], позволяющий ме-

тодом наименьших квадратов (МНК) итеративно уточнять первоначально принятые значения k_{jl}^0. Несомненное достоинство этого метода — возможность получения оценок дисперсий для каждого из определяемых параметров k_{ij}^0 по ковариационной матрице системы нормальных уравнений МНК. Однако и скорость сходимости, и сходимость такого метода зависят от удачного выбора исходных значений k_{ij}^0. В неблагоприятном случае рассматриваемый алгоритм будет иметь либо неприемлемо малую скорость сходимости, либо может перейти даже в колебательный режим [3].

Второй подход базируется на теории планирования эксперимента (ТПЭ) при оптимизации функции нескольких переменных. Здесь S_R рассматривается в качестве отклика системы, параметры k_{ij} — в качестве входных переменных, т. е. факторов, влияющих на S_R.

Следовательно, S_R — функция различных комбинаций k_{ij}, и задача определения параметров модели сводится к определению оптимальной комбинации k_{ij}, обеспечивающей выполнение условия

$$S_R = f(K) \to \min, \text{ при } K \to K_{\text{опт}}, \tag{14}$$

где K — вектор параметров k_{ij}.

Для оптимизации функции отклика в ТПЭ разработан ряд методов: метод покоординатного перебора, градиентный, симплекс-метод и метод случайного поиска. Пока нет единого способа сравнения этих методов на теоретической основе. Однако опыт применения их к конкретным задачам камерного анализа [11, 18, 19] позволяет сделать некоторые обобщающие заключения:

1. Наиболее прост по реализации на ЭЦВМ метод покоординатного перебора. Однако он и наименее эффективен, поскольку для обнаружения $K_{\text{опт}}$ с заданной точностью требуется вести последовательный перебор значений параметров K с достаточно малым шагом, что приводит к значительным и неоправданным затратам машинного времени [2, 11].

2. Градиентные методы более эффективны, поскольку движение в область оптимума происходит в направлении наискорейшего уменьшения S_R. Однако скорость сходимости сильно зависит от выбора начальной точки движения.

3. Симплекс-метод по реализации на ЭЦВМ значительно проще градиентного. По скорости сходимости он почти не уступает последнему, а в задачах большой размерности и даже превосходит его. Сходимость практически не зависит от выбора начальной точки поиска. Таким образом, при прочих равных условиях для задач определения параметров камерных моделей симплекс-метод обладает рядом преимуществ перед градиентным.

4. Последние два метода позволяют находить лишь локальные экстремумы, поэтому они не могут гарантировать обнаружение глобального экстремума для многоэкстремальной поверхности отклика. Запуск названных алгоритмов последовательно из нескольких начальных точек тоже не дает такой гарантии, хотя и позволяет обнаружить существование нескольких экстремумов.

5. Метод случайного поиска с направляющим конусом [20] служит для поиска глобального экстремума. По скорости сходимости он сравним с обоими методами, особенно в задачах с большим числом параметров и сложной конфигурацией отклика. Это делает метод случайного поиска с направляющим конусом наиболее универсальным для решения задач определения параметров камерных моделей, несмотря на сложность реализации его на ЭЦВМ.

Общий недостаток для всех рассматриваемых методов — невозможность точной локализации координат экстремума. Методы поиска позволяют лишь выйти в область, близкую к оптимуму. Поэтому, например, запуская алгоритм случайного поиска из разных начальных точек, мы будем получать близкие, но различные комбинации $K_{опт}$. Кроме того, названные методы непосредственно не дают оценок дисперсии для параметров $K_{опт}$.

Таким образом, как метод последовательных приближений, так и методы оптимизации отклика обладают недостатками. Однако они дополняют друг друга. Так, полученная методом случайного поиска комбинация $K_{опт}$, хотя и не определяет точно местоположение глобального минимума функции S_R, служит отличной исходной точкой для метода последовательных приближений Гаусса — Ньютона, который позволяет уточнить значения $K_{опт}$ и получить оценки дисперсий для них.

Следовательно, последовательное применение метода случайного поиска с направляющим конусом и метода последовательных приближений Гаусса — Ньютона может служить универсальным алгоритмом для определения параметров камерной модели.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. А. Лихтарев. Автореф. докт. дисс. М., 1974.
2. Д. П. Осанов, И. А. Лихтарев, Г. Б. Радзиевский. Дозиметрия инкорпорированных радиоактивных веществ. М., «Атомиздат», 1970.
3. G. L. Atkins. Multicompartment Models for Biological Systems. London, 1969.
4. Dinamic studies with radioisotopes in medicine. Vienna, 1971.
5. C. W. Sheppard. Basic principles of the fracer method. N. Y.— London, 1962.
6. A. K. Solomon. Mineral Metabolism. (Ed. C. F. Comar and F. Bronner). N. Y.— London, Academic Press, 1961, 1, 119.
7. L. C. Lax, S. Sidlofsky, A. Wrenshall. J. Physiol., 1956, 132, 1.

8. J. E. A. McIntosh, C. Luttwak-Mann. Biochem. J., 1972, **126**, N 4, 869.
9. J. S. Robertson. Physiol. Rev., 1957, **37**, 133.
10. R. Bellman. Math. Biosci., 1972, **14**, N 1—2, 45.
11. Б. В. Попов, В. С. Безель. Методы определения содержания радиоактивных изотопов в организме человека (материалы симпозиума). Л., 1973, 53.
12. К. Ланцош. Практические методы прикладного анализа. М., Физматгиз, 1961.
13. R. Bellman. Boll. Unione Matem. Ital., 1960, **15**, N 1, 38.
14. D. G. Gardner. Annals N. Y. Acad. Sci., 1963, **108**, N 1, 195.
15. M. Berman. Computers im Biomedical Research. (Eds. R. W. Stacy and Waxman B. D.). London, Academic Press, 1965, **11**, 7.
16. M. Berman, R. Schoenfeld. J. App. Phys., 1956, **27**, 1361.
17. M. Berman, E. Shahn, M. F. Weiss. Biophys. J., 1962, **2**, 275.
18. Б. В. Попов, Н. Н. Субботина, В. С. Безель. Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Труды Ин-та экологии растений и животных, 1974, вып. 89, 98.
19. R. H. Davis, J. H. Ottaway. Math. Biosci., 1972, **13**, N 3—4, 265.
20. Л. Н. Коротаева, А. В. Панишев. Алгоритмы и программы случайного поиска. Под ред. Л. А. Растригина. Рига, «Зинатне», 1969, 179.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3:51.001.57:621.039.85:591.471.3

Б. В. ПОПОВ, В. С. БЕЗЕЛЬ

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОБМЕНА ЦИНКА В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

Интерес к изучению метаболизма цинка в животном организме определяется ролью, которую играет этот микроэлемент в процессах жизнедеятельности. Связанный с ферментами, гормонами, витаминами, он оказывает значительное влияние на основные жизненные процессы: кроветворение, размножение, рост и развитие организма, обмен углеводов, белков и жиров, окислительно-восстановительные процессы, энергетический обмен [1—3]. Накоплен значительный материал о содержании и функции этого элемента в различных органах и тканях человека и животных [1—6]. Однако информация о динамике обмена цинка менее полна и ограничивается лишь качественным описанием процессов захвата и потери радиоактивного цинка отдельными органами и тканями. Вместе с тем данные по содержанию эндогенного цинка в отдельных тканях и по обмену радиоактивного цинка позволяют получить и количественные характеристики интенсивности обмена цинка в организме. Такие характеристики могут быть определены при математическом моделировании метаболизма цинка.

ПОСТРОЕНИЕ МОДЕЛИ

Математическая модель должна правильно описывать обмен цинка как качественно, так и количественно: путь поступления, места локализации, пути экскреции, содержание цинка в органах, динамику содержания радиоактивного цинка. Для построения модели необходимо выявить наиболее существенные с точки зрения метаболизма цинка ткани организма. К таким тканям можно отнести те, в которых выполняется по крайней мере одно из условий: 1) высокое общее содержание цинка, 2) высокая концентрация цинка, 3) высокая интенсивность обмена радиоцинка. На основании этих принципов были выделены в отдельные каме-

ры модели следующие ткани: скелет, мышцы, кожа, печень, почки, поджелудочная и половые железы, плазма крови.

С учетом пути всасывания и того обстоятельства, что экскреция цинка происходит главным образом с желчью, соком поджелудочной железы и через слизистую кишечника, общая картина обмена цинка в организме животных может быть представлена структурной схемой (рис. 1). Процессы обмена цинка в такой модели описываются системой линейных дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами:

$$
\begin{aligned}
\dot{y}_1 &= -(k_1+k_2)\,y_1+k_3y_2+k_4y_3+k_5y_4;\\
\dot{y}_2 &= k_2y_1-(k_3+k_7+k_9+k_{11}+k_{12}+k_{14}+k_{16}+k_{18}+k_{20}+k_{26})\,y_2+\\
&\quad +k_6y_3+k_8y_4+k_{10}y_5+k_{13}y_6+k_{15}y_7+k_{17}y_8+k_{19}y_9+k_{21}y_{11};\\
\dot{y}_3 &= k_7y_2-(k_4+k_6)\,y_3;\\
\dot{y}_4 &= k_9y_2-(k_5+k_8)\,y_4;\\
\dot{y}_5 &= k_{11}y_2-k_{10}y_5;\\
\dot{y}_6 &= k_{12}y_2-k_{13}y_6;\\
\dot{y}_7 &= k_{14}y_2-k_{15}y_7;\\
\dot{y}_8 &= k_{16}y_2-k_{17}y_8;\\
\dot{y}_9 &= k_{18}y_2-(k_{19}+k_{22})\,y_9+k_{22}y_{10};\\
\dot{y}_{10} &= k_{22}y_9-k_{23}y_{10};\\
\dot{y}_{11} &= k_{20}y_2-(k_{21}+k_{24})\,y_{11}+k_{25}y_{12};\\
\dot{y}_{12} &= k_{24}y_{11}-k_{25}y_{12};\\
\dot{y}_{13} &= k_1y_1;\\
\dot{y}_{14} &= k_{26}y_2,
\end{aligned}
\qquad (1)
$$

где y_i — содержание цинка в i-й камере; k_i — константы скорости переноса цинка между камерами (параметры модели); точка над переменной обозначает дифференцирование по времени. Нумерация переменных соответствует рис. 1.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ МОДЕЛИ

Определение параметров модели производилось в два этапа [7]. На первом этапе замена точного аналитического решения для камеры y_2 (плазма и внеклеточная жидкость) аппроксимирующим выражением $f(t)$ позволила разложить общую модель на элементарные модели обмена цинка в отдельных органах (рис. 2). Система уравнений (1) распалась на независимые уравнения вида

$$\dot{y}_i = -k_1^i y_i + k_2^i f(t), \quad i = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11. \qquad (2)$$

В первоначальном варианте мы считали однокамерными скелет и другие ткани организма ($y_{10}=0$, $y_{12}=0$). Аппроксимирующее выражение $f(t)$ было получено нами по данным работы [8], в которой подробно описан клиренс плазмы крови крыс после внутривенной инъекции цинка-65 в интервале времени от нескольких минут до 20 суток:

$$y_{пл} = 33{,}2\exp(-0{,}93t) + 61{,}6\exp(-0{,}115t) + 2{,}77\exp(-0{,}0036t) + \\ + 0{,}96\exp(-0{,}000057t), \qquad (3)$$

где t — время, *мин*; $y_{пл}$ — % от введенного. Если принять, что первые два члена этой суммы соответствуют процессам разведения активности во внеклеточной жидкости, то поведение цинка в этой жидкости можно описать выражением

$$y_{вн} = \frac{V_{вн}}{V_{пл}}[-1{,}073\exp(-1339{,}2t) - 1{,}993\exp(-165{,}6t) + \\ + 2{,}77\exp(-5{,}18t) + 0{,}296\exp(0{,}082t)], \qquad (4)$$

где t — *сутки*, $V_{вн}$ — объем внеклеточной жидкости (без плазмы); $V_{пл}$ — объем плазмы (0,55—0,60% веса всей крови). Поскольку вес крови составляет 6—7% веса всего тела, а объем всех внеклеточных жидкостей организма 22—25% веса тела, то

$$y_{вн} = -6{,}22\exp(-1339{,}2t) - 11{,}56\exp(-165{,}6t) + 16{,}07 \times \\ \times \exp(-5{,}18t) + 1{,}72\exp(-0{,}082t). \qquad (5)$$

Окончательно аппроксимирующее выражение для плазмы и внеклеточной жидкости будет иметь вид

$$f(t) = y_{пл} + y_{вн} = 27\exp(-1339{,}2t) + 50\exp(-165{,}6t) + \\ + 18{,}8\exp(-5{,}18t) + 2{,}02\exp(-0{,}082t). \qquad (6)$$

В качестве экспериментальных результатов по динамике содержания цинка-65 в отдельных органах были использованы данные работ [8—16]. Определение параметров модели в выражении (2) производили симплекс-методом. Для скелета и «других тканей» однокамерный вариант элементарной модели не обеспечил необходимой степени приближения к экспериментальным данным (рис. 3, кривая *1*), поэтому была предпринята попытка использовать двухкамерную модель (рис. 4, *А*). Наилучшее соответствие достигается, если параметры $K_5 = K_6 = 0$, т. е. если камеры соединены последовательно (см. рис. 4, *Б*). Результаты подгонки для скелета представлены на рис. 3 (кривая *2*).

На втором этапе произведена «сборка» полной модели из элементарных моделей обмена в отдельных органах и дополнительная «подгонка» ее методом случайного поиска с направляющим конусом. Этим обеспечивалось наилучшее соответствие между точным решением для камеры y_2 по полной модели и

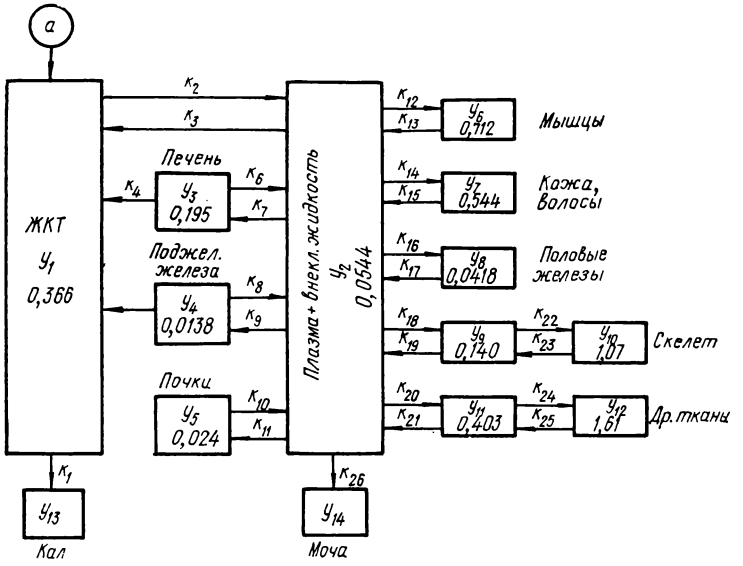


Рис. 1. Модель обмена цинка в животном организме.

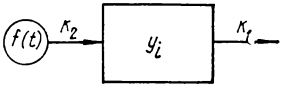


Рис. 2. Однокамерная «элементарная» модель.

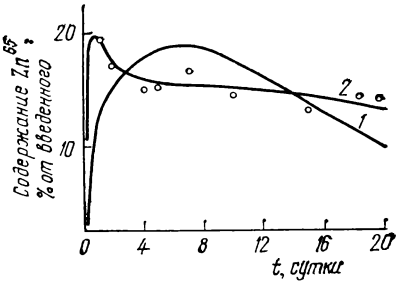


Рис. 3. Динамика содержания цинка-65 в скелете крыс после однократной внутривенной инъекции излучателя:

1 — однокамерная модель, *2* — двухкамерная модель.

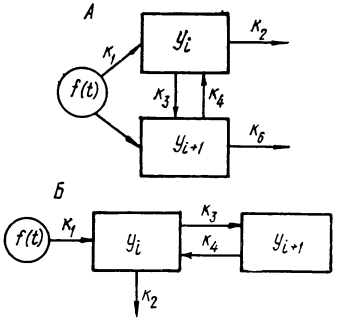


Рис. 4. Двухкамерная «элементарная» модель. Объяснение в тексте.

использованным ранее аппроксимирующим выражением $f(t)$. Окончательные результаты определения параметров полной модели следующие:

i	k_i	i	k_i	i	k_i	i	k_i
1	2,73	8	6,44	14	0,50	21	0,684
2	0,64	9	2,01	15	0,05	22	2,70
3	0,62	10	3,29	16	0,432	23	0,354
4	0,89	11	1,45	17	0,56	24	0,088
5	1,49	12	1,94	18	45,0	25	0,022
6	1,30	13	0,148	19	17,5	26	0,07
7	7,95			20	5,05		

Динамика содержания цинка-65 в отдельных камерах организма представлена на рис. 5. Расчеты полной модели проведены для внутривенного введения изотопа.

ПРОВЕРКА АДЕКВАТНОСТИ МОДЕЛИ

Познавательная ценность модели значительно возрастает, если она не только описывает экспериментальные данные, использованные при ее построении, но и отображает реальные закономерности обмена цинка. Проверка адекватности заключается в сравнении результатов имитации на модели различных режимов поступления цинка или иных воздействий на его обмен с аналогичными результатами, полученными экспериментально.

Однократное пероральное поступление цинка-65. Задание для модели начальных условий

$$y_1(0)=100\%,\ y_i(0)=0,\ i=2,\ 3,\ 4,\ \ldots,\ 14 \qquad (7)$$

имитирует режим однократного перорального введения цинка-65. Результаты расчета представлены графически (рис. 6 и 7). Отмечено тесное соответствие модельного прогноза и экспериментальных результатов [17] по изменению активности всего тела крысы при указанном способе введения излучателя (см. рис. 6, кривая *2*), несмотря на то что эта группа экспериментальных данных не использовалась при определении параметров модели.

В работе [11] приведены данные по радиоактивности некоторых органов через 24 *ч* после перорального введения раствора $Zn^{65}Cl_2$ без носителя. Сравнение этих результатов с расчетом показывает удовлетворительное совпадение для поджелудочной железы, почек и печени, % от дозы:

	Данные [11]	Расчет
Поджелудочная железа	0,13±0,002	0,16
Почки	0,24±0,03	0,32
Печень	3,2±0,3	2,65
Скелет	1,44±0,24	3,40

В то же время для скелета модель дает примерно в два раза более высокие результаты, чем в эксперименте. Однако в этой

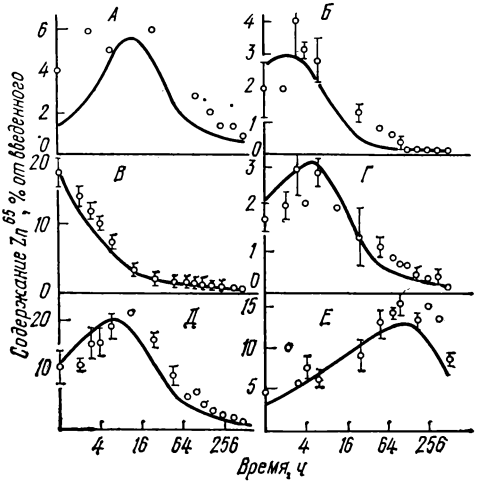


Рис. 5. Экспериментальные результаты (*точки*) и расчет (*кривые*) динамики содержания цинка-65 в органах крыс после однократного внутривенного введения излучателя.

А — желудочно-кишечный тракт, *Б* — поджелудочная железа, *В* — плазма и внеклеточная жидкость, *Г* — почки, *Д* — печень, *Е* — мышцы.

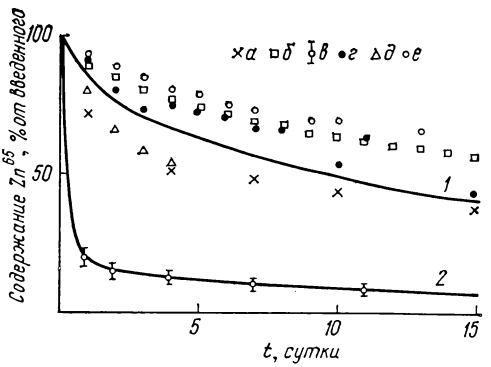


Рис. 6. Изменение содержания цинка-65 в теле крысы после однократного внутривенного (*1*) и перорального (2) введения излучателя.

1, *2* — расчет по модели; *а* — *д* — экспериментальные данные работ: *а* — [10], *б* — [12], *в* — [7], *г* — [8], *д* — [14]. *е* — наши данные.

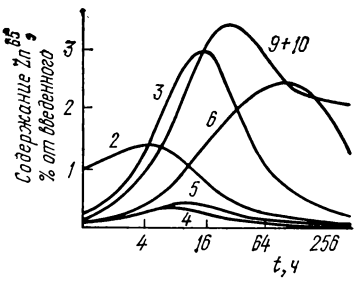


Рис. 7. Расчетное изменение содержания цинка-65 в органах крыс после имитации на модели однократного перорального введения излучателя. *Цифры на кривых* — номера камер полной модели обмена цинка.

же работе другая группа данных позволяет оценить содержание цинка-65 в скелете через сутки как 3—4 %, от введенной дозы, что и предсказывает модель. Поскольку для остальных органов данные близки, необходимо привлечение дополнительного экспериментального материала для однозначного заключения о степени совпадения модельного прогноза для скелета.

Стационарные фонды. Предлагаемая модель позволяет воспроизвести режим хронической затравки животного цинком-65 и определить время достижения равновесия в системе и равновесные количества цинка в каждой из камер (стационарные фонды — $\bar{y}_i$). Для этого запишем первое дифференциальное уравнение системы (1) следующим образом:

$$\frac{d}{dt} y_1 = -(k_1 + k_2)\, y_1 + k_3 y_2 + k_4 y_3 + k_5 y_4 + a, \qquad (8)$$

где неоднородный член a соответствует суточному поступлению цинка в организм. Остальные дифференциальные уравнения остаются без изменений. Решение такой новой системы дифференциальных уравнений (8) позволило установить, что равновесие в большинстве камер модели наступает практически через 100—150 суток, а в медленнообменной части скелета (y_{12}) лишь через 300 суток. Подобные результаты хорошо согласуются с экспериментальными данными работы [11], где равновесие при хронической затравке цинком-65 достигалось во всех камерах, за исключением бедра, не позднее 200 суток.

Равновесные значения $\bar{y}_i$ можно найти, приравняв все дифференциальные уравнения системы (8) к нулю. В результате мы будем иметь простую систему алгебраических уравнений, причем число уравнений равно числу неизвестных y_i. Камеры экскреции с мочой и калом, естественно, не рассматриваются, так как в них равновесие не может быть достигнуто.

Интересно сравнить полученные значения стационарных фондов $\bar{y}_i$ с данными по содержанию эндогенного цинка в органах. Для этого экспериментальные результаты по содержанию стабильного цинка в отдельных органах [3, 4, 6, 8, 18—21] представлены в долях от содержания цинка в плазме крови и внеклеточной жидкости ($\bar{y}_2^э$):

Камера модели	Литературные данные	Расчет
1	—	6,73
2	1	1
3	2,51—4,52	3,63
4	0,144—0,185	0,254
5	0,276—0,539	0,44
6	12,4—20,0	13,1
7	8,25—11,5	10,0
8	0,216—0,277	0,765
9+10	10,7—37,4	22,2
11+12	19,1—41,6	37,0

Стационарные фонды камеры 2 составляют 0,0544 отн. ед. (по отношению к сточному поступлению), а содержание цинка в плазме и внеклеточной жидкости 65,0—83,5 *мкг*. Последняя величина может быть определена следующим образом. В цельной крови содержится 623 *мкг*% цинка [22], причем, по данным [6], в плазме содержится только 12% от этого количества. Поскольку вес цельной крови примерно равен 7% веса тела крысы [23, 24], а вес плазмы 55—60% от этой величины [24], то концентрация цинка в плазме крови ($C_{пл}$) составит

$$C_{пл}=\frac{623\ мкг\ \%\cdot 0{,}12}{100\ г\cdot(0{,}55-0{,}60)}=1{,}25-1{,}36\ мкг\ \text{Zn на 1}\ г\ \text{плазмы}.$$

Эта величина хорошо согласуется с данными Дворжака [25] и Гильберта, Тейлора [8], соответственно 1,54 и 1,67 *мкг* Zn на 1 *мл* сыворотки. При этом, как отмечено в работе [3], концентрация цинка в сыворотке выше, чем в плазме. Если принять, что концентрация цинка во внеклеточной жидкости приближенно равна концентрации цинка в плазме крови и объем всех внеклеточных жидкостей тела крысы приблизительно равен 25% веса тела [23], то содержание цинка во внеклеточной жидкости, включая плазму крови, для двухсотграммовой крысы составит

$$\bar{y}_2^э=(1{,}25\div 1{,}67\ мкг/г)\cdot 0{,}25\cdot 200\ г=62{,}5\div 83{,}5\ мкг.$$

Стационарные фонды, даваемые моделью, не совпадают с содержанием стабильного цинка только для поджелудочной железы и половых желез, причем расхождение особенно велико в последнем случае. Необходима более детальная «проработка» элементарной модели обмена цинка в половых железах. Отметим, что и на этапе построения модели из всех органов, обмен цинка в которых представлен однокамерными моделями, наибольшее несоответствие между расчетом и экспериментом наблюдалось как раз для половых желез (y_8).

Совпадение модельного прогноза с экспериментальными результатами для всех остальных органов — серьезный аргумент в пользу того, что модель, построенная по результатам опытов с радиоактивным цинком для внутривенного введения, удовлетворительно отражает и процессы обмена эндогенного цинка.

Цинкдефицитная диета. Патологические проявления дефицита цинка на уровне целостного организма несомненно определяются развитием дефицита цинка в отдельных органах [3]. Поэтому информация о динамике содержания цинка в органах и тканях животных в условиях цинкдефицита представляет значительный интерес. Приняв в качестве начальных условий для отдельных камер модели значения стационарных фондов ($\bar{y}_i$) и положив в выражении (8) $a=0$, можно воспроизвести условия полного отсутствия цинка в диете (рис. 8).

Поскольку в реальном эксперименте трудно добиться полной очистки диеты от цинка, то для сравнения модельного прогноза с экспериментальными данными воспользуемся результатами работы [11], где прослеживается падение активности в отдельных органах крыс после прекращения 200-дневной затравки (с питьевой водой) животных радиоактивным цинком. И в опыте, и на модели наиболее медленное падение содержания цинка происходит в скелете, в коже и волосах. Группа тканей (печень, мышцы и кровь, а в модели — поджелудочная железа, почки и половые железы) теряет цинк примерно с одинаковой скоростью, причем плазма и внеклеточная жидкость (а в эксперименте кровь) быстрее других. Наиболее быстро дефицит цинка развивается на модели в камере 1 (желудочно-кишечный тракт), что интересно проверить в эксперименте (в цитируемой работе такие данные отсутствуют). Косвенным подтверждением полученным результатам служит указание на то, что «одним из постоянных признаков дефицита цинка является поражение слизистой кишечника» [3].

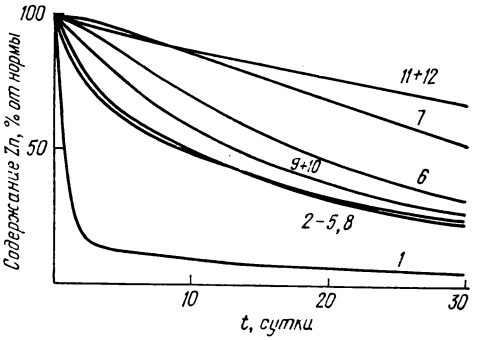


Рис. 8. Расчетное изменение содержания стабильного цинка в органах крыс при имитации на модели цинкдефицитного рациона. *Цифры на кривых* — номера камер полной модели обмена цинка.

Таким образом, проведенная проверка адекватности модели показала, что в общих чертах модель отражает известные закономерности обмена радиоактивного и стабильного цинка в животном организме. Поэтому она может быть использована для прогнозирования и получения новой информации о моделируемом процессе. В частности, модель позволяет оценить для крыс величину суточной потребности в цинке, которая в норме по модельным оценкам составляет 6,45 *мг* на 1 *кг* веса тела. Эта величина более чем на порядок превышает суточную потребность в цинке человека (0,17—0,21 *мг* на 1 *кг* веса тела). Возможна также модельная оценка интенсивности обмена цинка между отдельными органами и тканями на основании сравнения потоков между камерами. Поток равен количеству вещества, выносимого или вносимого в данный орган за единицу времени, и вычисляется как произведение стационарного фонда на константу скорости переноса вещества:

$$p_i = k_i y_j, \tag{9}$$

где p_i — поток вещества между камерами модели.

В заключение следует подчеркнуть, что рассмотренная модель, как и всякая другая, является лишь отражением реального объекта. Она позволяет выделить наиболее существенные с точки зрения исследования стороны изучаемого объекта, но не охватывает всего многообразия его особенностей. Поэтому любое заключение, сделанное на базе модели, требует последующей экспериментальной проверки.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Г. Коломийцева, Р. Д. Габович. Микроэлементы в медицине. М., «Медицина», 1970.
2. Я. А. Лазарис, В. М. Карлинский. Успехи современной биологии, 1970, **70**, 255.
3. В. А. Леонов, Т. Л. Дубина. Цинк в организме человека и животных. Минск, 1971.
4. А. И. Войнар. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., «Высшая школа», 1960.
5. Zinc Metabolism. Ed. A. S. Prasad. Springfield, 1966.
6. B. L. Vallee. Physiol. Rev., 1959, **39**, 443.
7. Б. В. Попов. Статья в настоящем сборнике.
8. I. G. Gilbert, D. M. Tayler. Biochim. Biophys. Acta, 1956, **21**, 545.
9. Г. В. Архангельская, Л. А. Ильин, Т. А. Норец. Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов. М., «Атомиздат», 1966, 531.
10. Х. Д. Христов. Материалы по токсикологии радиоактивных веществ, вып. 5. Л., «Медицина», 1965, 12.
11. J. E. Ballou, R. C. Thompson. Health Physics, 1961, **6**, 6.
12. A. Catsch, D. K. Le. Strahlentherapie, 1966, **130**, 4.
13. P. Czernjak, A. Naharin, N. Alexander. Int. J. Appl. Rad. Isotopes, 1962, **13**, 547.
14. R. McIsaak. Endocrinology, 1955, **57**, 571.
15. J. P. Okunewick, B. Pond, T. G. Hennessy. Amer. J. Physiol., 1962, **202**, N 5, 926.
16. M. E. Rubini, G. Montalvo, C. P. Lockhart, C. R. Johnson. Amer. J. Physiol., 1961, **200**, N 6, 1345.
17. J. E. Furchner, C. R. Richmond. Health Physics, 1962, **8**, 35.
18. W. M. Becker, W. G. Hoekstra. J. Nutr., 1968, **94**, 455.
19. M. J. Millar, M. I. Fischer, C. A. Mawson, P. V. Elcoate. Nature, 1954, **174**, 881.
20. J. Pallauf, M. Kirchgessner. Zs. Tierphysiol., Tierernähr. Futtermittelk., 1971, **28**, N 3, 121.
21. D. M. Taylor. Nature, 1961, **189**, 932.
22. Т. Л. Дубина. Докл. АН БССР, 1964, **8**, 54.
23. В. С. Асатиани. Биологические таблицы, т. 1. Тбилиси, 1960.
24. С. И. Гальперин. Физиология человека и животных. М., «Высшая школа», 1970.
25. P. Dvořak. Strahlentherapie, 1970, **139**, N 5, 611.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Е. И. СУХАЧЕВА

ПОВЕДЕНИЕ РАДИОАКТИВНОЙ МЕДИ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Медь — один из наиболее важных микроэлементов организма, поэтому вполне понятен тот интерес, который проявляется к изучению ее обмена. Показаны закономерности поведения радиоактивной меди у самцов крыс после внутривенного и перорального введения Cu^{64}-ацетата в разных весовых количествах в течение срока до 7 суток [1, 2]. С увеличением вводимой дозы стабильной меди возрастает уровень выделения меди-64 с калом, а экскреция излучателя через почки снижается [1]. Основным депо накопления радиомеди служат печень и почки, причем содержание Cu^{64} в них к 7-м суткам уменьшается в несколько раз [2].

При внутрибрюшинном введении крысам комплексных форм меди (Cu^{64}-глицин, Cu^{64}-ЭДТА) излучатель накапливается также в основном в печени и почках, в то время как у мышей после внутривенного введения этих же комплексов наиболее высокое отложение меди-64 обнаруживалось в эпифазе костей [3]. Приведенные данные указывают на то, что поведение Cu^{64} в организме определяется видовыми особенностями обмена у подопытных животных и весовой дозой изотопного носителя. В известной нам литературе нет данных по поведению радиоактивной меди у самок, а также по распределению меди-64 в организме после введения хлорида меди. Изучение этих вопросов и являлось целью наших исследований.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Самкам крыс (средний вес 232,1±4,5 *г*), содержавшимся на стандартной диете, вводили внутривенно 0,4 *мл* раствора $Cu^{64}Cl_2$ (активность 30 *мккюри*, pH 1,0, содержание стабильной меди 0,32 *мг*). Животных содержали в обменных клетках, позволяющих собирать раздельно мочу и кал. В разные сроки

Таблица 1

Динамика распределения меди-64 в организме крыс после внутривенной инъекции, % от баланса

Ткани и выделения	Время после введения			
	5 *мин*	1 *ч*	4 *ч*	24 *ч*
Печень	7,95±0,27	10,52±1,02	55,09±2,14	47,16±2,22
Почки	3,01±0,12	6,52±0,34	5,21±0,46	1,88±0,39
Селезенка	0,45±0,01	0,36±0,02	0,30±0,10	0,29±0,06
Легкие	2,54±0,35	2,39±0,24	0,35±0,01	0,38±0,03
Желудочно-кишечный тракт	4,62±0,51	10,57±1,22	13,70±0,86	15,28±1,24
Мышцы	17,15±2,48	23,67±0,91	5,58±1,35	3,21±0,75
Скелет	5,76±0,16	5,87±0,37	2,81±0,89	1,39±0,23
Мягкие ткани тушки	58,52±3,0	40,10±0,10	11,25±2,87	7,26±0,70
Моча	—	—	5,28±0,44	7,69±0,64
Кал	—	—	0,43±0,09	15,46±3,12

Примечания: 1. Желудочно-кишечный тракт брали вместе с содержимым на все сроки. 2. Остаток тушки без мышц и скелета. 3. Баланс 111,63±3,42%, в каждой группе 3—5 крыс.

крыс забивали путем декапитации, брали пробы крови, мышц и органов; пробы предварительно озоленных бедренной кости, кишечника и остатка тушки, а также высушенного кала готовили из сухого порошка. Мочу вместе со смывами с клетки выпаривали до определенного объема, кратные пробы наносили на стандартные подложки и высушивали под инфракрасной лампой. Плазму крови получали центрифугированием гепаринизированной крови в течение 10 *мин* при 3000 *об/мин*, отбирали кратные пробы плазмы и эритроцитов.

Измерение радиоактивности проб проводили на установке ПСТ-100 с приставкой УСД-1. Результаты выражали в процентах от введенной дозы после внесения поправки на радиоактивный распад.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Как видно из полученных данных (табл. 1, рис. 1), динамика распределения меди-64, введенной в виде хлорида, в течение 24 *ч* после инъекции имеет двухфазный характер. Более или менее высокий исходный уровень содержания излучателя в остатке тушки (58,5%), скелете (5,76%), легких (2,54%) и селезенке (0,45%) резко падает к четвертому часу, после чего заметных изменений в общей активности этих тканей и органов не наблюдалось. Некоторые отклонения в величинах отложения на 24 *ч* по сравнению с предыдущим сроком недостоверны ($p = 0{,}1—0{,}12$).

Несколько иной характер распределения меди-64 наблюдался в мышцах, где в сроки до 1 *ч* содержание излучателя заметно возрастало (23,67%) и лишь после этого начиналась фаза быстрого выбывания: на 4 *ч* отложение радиоактивной меди в них составляло всего 5,58% и оставалось постоянным до конца наблюдений. Содержание излучателя в почках до 1 *ч* достоверно увеличивалось ($p=0{,}0007$), затем до 4 *ч* существенно не меняется и только к 24 *ч* уменьшается почти в 3 раза ($p=0{,}002$). Выделение меди-64 с мочой от 4 до 24 *ч* возрастает с 4,28 до 7,65%.

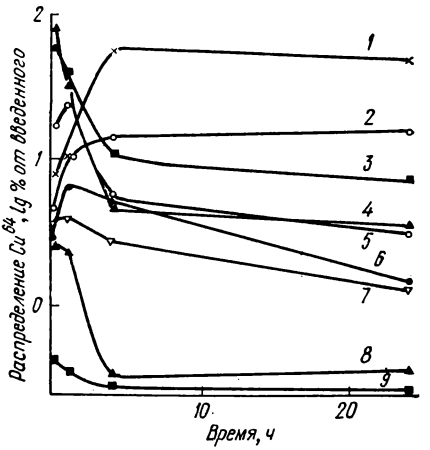


Рис. 1. Динамика распределения меди-64 в организме самок крыс после внутривенного введения хлорида меди.

1 — печень, *2* — желудочно-кишечный тракт, *3* — мягкие ткани тушки, *4* — кровь, *5* — мышцы, *6* — почки, *7* — скелет, *8* — легкие, *9* — селезенка.

Если содержание Cu^{64} в тушке, легких и мышцах снижается на 4 *ч*, то в печени и желудочно-кишечном тракте на этот срок оно заметно возрастает (55,09 и 13,70%). В кишечнике на 24 *ч* кумулирование меди-64 несколько повышается (см. рис. 1, табл. 1), а в печени достоверно падает с 55,09 до 47,16% ($p=0{,}045$). Снижение активности печени происходит, по всей вероятности, за счет выделения излучателя в кишечник с желчью; в пользу этого свидетельствует резкое повышение экскреции радиоизотопа с калом (с 0,43 до 15,46% от 4 до 24 *ч*), в то время как общая активность кишечника изменяется мало.

Радиоактивная медь довольно быстро выбывает из крови; к четвёртому часу в ней остается всего 4,78% (табл. 2). После этого содержание меди-64 в цельной крови, плазме и эритроцитах не изменяется, хотя и проявляется некоторая тенденция к снижению в крови и эритроцитах и к повышению в плазме. Динамика процесса выбывания Cu^{64} из крови (рис. 2) удовлетворительно описывается двухэкспоненциальным уравнением. Основная доля радиомеди (94,65%) выбывает с периодом полувыведения, равным 34 *мин*, вторая фракция (5,35%) выделяется кровью значительно медленнее ($T_{1/2}=54{,}1$ *ч*). Очищение плазмы и эритроцитов от радиоактивной меди также удовлетворительно описывается двумя экспонентами в пределах изученных нами сроков. Это свидетельствует о наличии по крайней мере четырех фракций меди в крови. Эритроцитами захватывается 13% радиомеди, из них 9,48% быстровыбывающая фракция, которая выводится с периодом полувыведения

В заключение следует подчеркнуть, что рассмотренная модель, как и всякая другая, является лишь отражением реального объекта. Она позволяет выделить наиболее существенные с точки зрения исследования стороны изучаемого объекта, но не охватывает всего многообразия его особенностей. Поэтому любое заключение, сделанное на базе модели, требует последующей экспериментальной проверки.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Г. Коломийцева, Р. Д. Габович. Микроэлементы в медицине. М., «Медицина», 1970.
2. Я. А. Лазарис, В. М. Карлинский. Успехи современной биологии, 1970, **70**, 255.
3. В. А. Леонов, Т. Л. Дубина. Цинк в организме человека и животных. Минск, 1971.
4. А. И. Войнар. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., «Высшая школа», 1960.
5. Zinc Metabolism. Ed. A. S. Prasad. Springfield, 1966.
6. B. L. Vallee. Physiol. Rev., 1959, **39**, 443.
7. Б. В. Попов. Статья в настоящем сборнике.
8. I. G. Gilbert, D. M. Tayler. Biochim. Biophys. Acta, 1956, **21**, 545.
9. Г. В. Архангельская, Л. А. Ильин, Т. А. Норец. Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов. М., «Атомиздат», 1966, 531.
10. Х. Д. Христов. Материалы по токсикологии радиоактивных веществ, вып. 5. Л., «Медицина», 1965, 12.
11. J. E. Ballou, R. C. Thompson. Health Physics, 1961, **6**, 6.
12. A. Catsch, D. K. Le. Strahlentherapie, 1966, **130**, 4.
13. P. Czernjak, A. Naharin, N. Alexander. Int. J. Appl. Rad. Isotopes, 1962, **13**, 547.
14. R. McIsaak. Endocrinology, 1955, **57**, 571.
15. J. P. Okunewick, B. Pond, T. G. Hennessy. Amer. J. Physiol., 1962, **202**, N 5, 926.
16. M. E. Rubini, G. Montalvo, C. P. Lockhart, C. R. Johnson. Amer. J. Physiol., 1961, **200**, N 6, 1345.
17. J. E. Furchner, C. R. Richmond. Health Physics, 1962, **8**, 35.
18. W. M. Becker, W. G. Hoekstra. J. Nutr., 1968, **94**, 455.
19. M. J. Millar, M. I. Fischer, C. A. Mawson, P. V. Elcoate. Nature, 1954, **174**, 881.
20. J. Pallauf, M. Kirchgessner. Zs. Tierphysiol., Tierernähr. Futtermittelk., 1971, **28**, N 3, 121.
21. D. M. Taylor. Nature, 1961, **189**, 932.
22. Т. Л. Дубина. Докл. АН БССР, 1964, **8**, 54.
23. В. С. Асатиани. Биологические таблицы, т. 1. Тбилиси, 1960.
24. С. И. Гальперин. Физиология человека и животных. М., «Высшая школа», 1970.
25. P. Dvořak. Strahlentherapie, 1970, **139**, N 5, 611.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591.471.3

Е. И. СУХАЧЕВА

ПОВЕДЕНИЕ РАДИОАКТИВНОЙ МЕДИ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Медь — один из наиболее важных микроэлементов организма, поэтому вполне понятен тот интерес, который проявляется к изучению ее обмена. Показаны закономерности поведения радиоактивной меди у самцов крыс после внутривенного и перорального введения Cu^{64}-ацетата в разных весовых количествах в течение срока до 7 суток [1, 2]. С увеличением вводимой дозы стабильной меди возрастает уровень выделения меди-64 с калом, а экскреция излучателя через почки снижается [1]. Основным депо накопления радиомеди служат печень и почки, причем содержание Cu^{64} в них к 7-м суткам уменьшается в несколько раз [2].

При внутрибрюшинном введении крысам комплексных форм меди (Cu^{64}-глицин, Cu^{64}-ЭДТА) излучатель накапливается также в основном в печени и почках, в то время как у мышей после внутривенного введения этих же комплексов наиболее высокое отложение меди-64 обнаруживалось в эпифазе костей [3]. Приведенные данные указывают на то, что поведение Cu^{64} в организме определяется видовыми особенностями обмена у подопытных животных и весовой дозой изотопного носителя. В известной нам литературе нет данных по поведению радиоактивной меди у самок, а также по распределению меди-64 в организме после введения хлорида меди. Изучение этих вопросов и являлось целью наших исследований.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Самкам крыс (средний вес 232,1±4,5 *г*), содержавшимся на стандартной диете, вводили внутривенно 0,4 *мл* раствора $Cu^{64}Cl_2$ (активность 30 *мккюри*, pH 1,0, содержание стабильной меди 0,32 *мг*). Животных содержали в обменных клетках, позволяющих собирать раздельно мочу и кал. В разные сроки

Таблица 2

Выбывание меди-64 из крови, плазмы и эритроцитов после внутривенной инъекции

Фракция крови	Время после введения			
	5 *мин*	1 *ч*	4 *ч*	24 *ч*
Кровь . .	80,03±10,24	31,36±2,96	4,78±0,57	3,69±0,34
Плазма .	68,10±10,40	23,07±2,82	1,82±0,10	2,56±0,33
Эритроциты	11,933±0,25	8,29±0,20	2,97±0,47	1,13±0,21

77 *мин*, а остальная часть Cu^{64} задерживается клетками крови в течение более длительного срока ($T_{1/2} = 14{,}1$ *ч*). Компоненты плазмы связывают 87% меди-64, причем основная доля ее (84,2%) выбывает из плазмы уже после первого часа ($T_{1/2} = 33$ *мин*), значительно меньшее количество излучателя (2,8%) составляет замедленную фракцию ($T_{1/2} = 203$ *ч*).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные показывают, что динамика распределения Cu^{64} в большинстве тканей и органов после внутривенного введения имеет ясно выраженный двухфазный характер. В первой фазе (0—4 *ч*) наблюдается быстрое выбывание меди-64 из тушки, скелета, легких и селезенки, а также из цельной крови. Совпадение сроков выбывания основной доли радиомеди из крови со сроками резкого снижения излучателя в органах и тканях свидетельствует о том, что высокий уровень активности в них обусловлен в основном радиоактивностью крови и лишь частично медью-64, фиксированной компонентами тканей и органов. Во второй фазе, с 4 до 24 *ч*, когда общая активность крови составляет всего 4,78 и 3, 69% ($p = 0{,}54$), содержание Cu^{64} в тканях также снижается до постоянного уровня, определяемого степенью сродства каждой ткани к этому микроэлементу. По данным [2], через 4 *ч* после инъекции Cu^{64}-ацетата у самцов крыс наблюдается небольшое, но устойчивое повышение содержания меди-64 в крови и скелете, что не подтверждается нашими наблюдениями на самках после инъекции хлорида меди. Это несоответствие может быть следствием различий в формах соединений меди и количестве изотопного носителя в инъецируемых растворах, а также, возможно, связано с половыми различиями подопытных крыс.

Накопление радиоактивной меди в печени, как и выбывание ее из тканей и органов, имело ясно выраженную двухфазность: фаза резкого возрастания количества депонированной меди-64 в

сроки до 4 *ч* сменяется фазой постепенного снижения отложения к 24 *ч*.

Анализ данных по динамике накопления излучателя в желудочно-кишечном тракте позволяет предполагать наличие двух процессов перехода радиоактивной меди в кишечник. До одного часа повышение общей активности кишечника соответствует высокой концентрации изотопа в крови, в то время как в печени процесс накопления только начинается. По-видимому, поступление меди в пищеварительный тракт в этот период происходит преимущественно из крови. После первого часа, когда содержание излучателя в крови заметно падает, а в печени заметно возрастает, переход Cu^{64} в кишечник осуществляется в основном с желчью из печени, и интенсивность этого процесса во времени повышается, поскольку выделение радиомеди с калом значительно увеличивается с 4 до 24 *ч*, а содержание ее в пищеварительном тракте в эти сроки существенно не меняется.

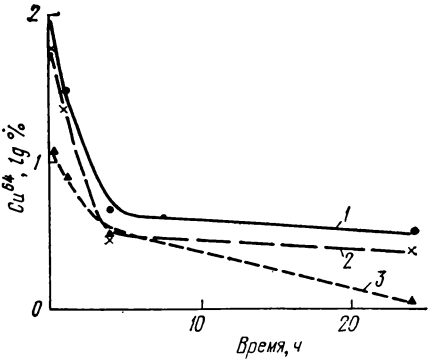


Рис. 2. Клиренс крови, плазмы и эритроцитов после внутривенного введения Cu^{64}.

1 — цельная кровь, $A_t=94{,}65e^{-1{,}22t}+5{,}35e^{-0{,}0128t}$; *2* — плазма, $A_t=84{,}23e^{-1{,}27t}+2{,}77e^{-0{,}0034t}$; *3* — эритроциты, $A_t=9{,}48e^{-0{,}59t}+3{,}62e^{-0{,}0049t}$.

Анализ динамики выбывания Cu^{64} из цельной крови, плазмы и эритроцитов позволил выделить четыре фракции меди в крови, что согласуется с литературными данными [4, 5]. Согласно классификации [4], медь в плазме находится в виде транспортной меди, рыхло связанной альбумином, и меди, образующей устойчивый комплекс с цероплазмином. Установленную в наших исследованиях основную быстровыбывающую из плазмы фракцию излучателя следует, по-видимому, рассматривать как транспортную форму. По данным [2], следы Cu^{64}, связанной цероплазмином, появляются в плазме через 15—30 *мин* после внутривенного введения радиоизотопа, а к шестому часу половина содержащейся в плазме радиомеди находится в цероплазмине. Это вполне согласуется с нашим заключением о том, что вторая замедленная фракция плазмы ($T_{1/2}=203$ *ч*) представлена в основном комплексом Cu^{64} с цероплазмином.

Эритроцитами крови захватывается значительно меньшая доля радиоактивности, чем плазмой, выявлены также различия и в скорости ее выбывания. Очищение клеток крови от первой фракции меди происходит в 2—2,5 раза медленней, чем плаз-

Таблица 1

Схемы опытов

Опыт I

Сутки		Группы крыс					
От начала опыта	После операции	I	II	III	IV	V	VI
110		Экстирпация желез внутренней секреции			Ложная операция		
111	1	Отсаживание по обменным клеткам					
112	2	Вводимые вещества					
		Физиол. р-р 2 *мл*×2	Na_2-ЭДТА 30 *мкгмолей*×2	Са-ЭДТА 30 *мкгмолей*×2	Физиол. р-р 2 мл×2	Na_2-ЭДТА 30 *мкгмолей*×2	Са-ЭДТА 30 *мкгмолей*×2

Опыт 2

Сутки		Группы крыс			
От начала опыта	После операции	I	II	III	IV
110		Экстирпация желез внутренней секреции		Ложная операция	
111	1	Отсаживание по обменным клеткам			

112	2	Вводимые вещества			
		Физиол. р-р	Паратиреоидин	Физиол. р-р	Паратиреоидин
114—115	4—5	4-кратные инъекции ежесуточно			
		Na_2-ЭДТА	Са-ЭДТА	Na_2-ЭДТА	Са-ЭДТА
116	6	Физиол. р-р + + Na_2-ЭДТА	Са-ЭДТА + + паратиреоидин	Na_2-ЭДТА + + паратиреоидин	Са-ЭДТА + + паратиреоидин

Дополнительный опыт

Колич. крыс	Часы от предыдущей инъекции					
	0	2	4	2	3	2
	Вводимые вещества					
	Паратиреоидин	ЭДТА	Паратиреоидин	ЭДТА	Паратиреоидин	ЭДТА
3	60	30	80	30	140	30
3	60	—	80	—	60	—
3	—	30	—	30	—	30
3	Контрольная группа					

Иттрий при этом может реабсорбироваться костными стенками гаверсовых, фолькмановских каналов и т. д. (длина костного капилляра около 500 *мк*, диаметр очага резорбции 20—100 *мк*). При наличии в момент резорбции в просвете сосуда комплексона он, соединившись с иттрием-91, может вывести его из организма.

Для проверки этой гипотезы проведены эксперименты, в которых сдвиги в обмене иттрия-91 оценивались по изменению его выведения с мочой в ответ на направленные вмешательства в эндокринную регуляцию кальция в организме. Известно [4—6], что ведущими железами внутренней секреции в обмене кальция организма и скелета позвоночных являются паращитовидная (гормон — паратиреоидин, основной физиологический эффект — повышение концентрации кальция крови вследствие повышенной резорбции кости), щитовидная (гормон — тирокальцитонин, основной физиологический эффект — понижение кальция крови вследствие торможения резорбции скелета) и слюнные (гормон — паротин, основной физиологический эффект — понижение уровня кальция крови, стимулирование обызвествления зубов и кости). Очевидно, доказательным следовало бы считать изменение поведения иттрия-91 при исключении гормональных влияний, а также при усиленной резорбции кости под влиянием паратгормона. Некоторые исследователи [7] обоснованно полагают, что под влиянием кальципривного эффекта натриевой соли ЭДТА должен включаться гормональный механизм гомеостаза. Интересно определить ценность этого эффекта в комплексонотерапии.

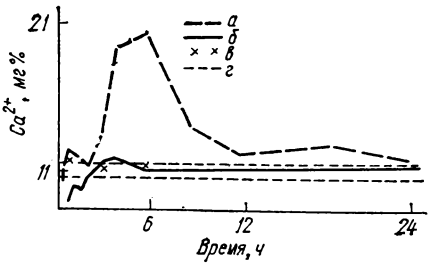
В предварительных опытах установлена динамика уровня кальция крови под влиянием паратиреоидина и натриевой и кальциевой солей ЭДТА. В опытах основной серии изучалось выведение иттрия-91 и кальция-40 с мочой у крыс при раздельном и совместном влиянии ряда воздействий на эндокринный аппарат кальциевого обмена скелета: а) одномоментной экстирпации щитовидной, паращитовидных и слюнных желез; б) введения паратиреоидина; в) Na_2-ЭДТА; г) Са-ЭДТА.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использованы 72 половозрелых крысы (24 самки и 48 самцов, соответственно 200±14 и 241±16 *г*). Для определения динамики действия паратиреоидина на концентрацию стабильного кальция в сыворотке крови крысам производили однократную внутрибрюшинную инъекцию гормона в дозе 180 ед. Кровь на анализ концентрации кальция брали из хвоста 2—3 раза в течение опыта, при забое — из крупных сосудов шеи. Время взятия проб: через 10 и 30 *мин*, 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 18 и 24 *ч* после инъекции. Пробы крови центрифугировали в течение 20 *мин* при 3000 *об/мин*. В сыворотке определяли

концентрацию кальция фотоколориметрическим методом Уилкинсона [8].

Для изучения выведения длительно депонированного в скелете иттрия-91 и стабильного кальция с мочой у крыс при раздельном и совместном влиянии ряда воздействий на эндокринный аппарат кальциевого обмена поставлены опыты, в которых иттрий-91 в виде 0,5 *мл* раствора невесомых количеств активностью 10 *мккюри* на животное ввели самкам в бедренную вену путем веносекции, самцам — в v. dorsalis penis. В течение 110 дней животных содержали на обычном лабораторном рационе, затем делили на две группы. Животным первой группы была произведена экстирпация щитовидной, паращитовидных, подчелюстных и околоушных слюнных желез. Животным второй группы проделана «ложная операция» (разрез, обнажение тех же желез, последующее ушивание). Животные помещены в обменные клетки, позволяющие собирать раздельно кал и мочу. В дальнейшем схемы опытов различны.



Динамика концентрации Ca^{2+} сыворотки крови крыс после введения 180 ед. паратиреоидина (*а*), 60 μгМ Na_2-ЭДТА (*б*), 60 μгМ Са-ЭДТА (*в*) и контроль (*г*).

В первом опыте в первые сутки не производилось никаких дополнительных воздействий. На вторые сутки обе группы разбиты на три подгруппы, и дважды в сутки с паузой 12 *ч* были произведены внутрибрюшинные инъекции 2 *мл* физиологического раствора или 2 *мл* раствора Na-ЭДТА (концентрация 30 *мкгмоля/мл*), или 2 *мл* Са-ЭДТА (концентрация 30 *мкгмоля/мл*). По истечении вторых суток животные были забиты. Схема опыта приведена в табл. 1.

На анализ взяты кровь, бедренные кости, головки большеберцовых костей, фрагменты кортикальных костей, резцы, лопатки, остатки тушки. Пробы тканей озолены в муфельных печах до белой золы и проанализированы на радиоактивность. Для определения радиоактивности мочи в конце каждых суток обменные клетки омывали 250 *мл* 0,1%-ного раствора ЭДТА, затем 500 *мл* дистиллированной воды и сливали с мочой. Смывы доводили до 50 *мл* выпариванием и определяли содержание в них радиоиттрия. Стабильный кальций определяли в сыворотке крови и нативной моче фотоколориметрическим методом Уилкинсона. Для выявления всего кальция, в том числе связанного ЭДТА, предварительно освобождали его мокрым озолением в концентрированной азотной кислоте.

Изучение влияния многократных инъекций Na-ЭДТА, Са-ЭДТА и паратиреоидина на животных с ненарушенной гор-

мональной регуляцией кальциевого обмена и на животных, у которых экстирпированы железы внутренней секреции, было произведено во втором опыте (см. табл. 1).

Для изучения влияния паратгормона и комплексона на обмен стабильного кальция и иттрия-91, депонированного в организме в течение одной недели, был проведен дополнительный опыт. Иттрий-91 в виде 0,5 *мл* раствора невесомого хлористого иттрия ввели внутривенно 12 крысам. На восьмые сутки животные посажены в обменные клетки и разделены на четыре подгруппы. В течение вторых суток опыта им были произведены повторные инъекции ЭДТА и паратиреоидина по схеме, указанной в табл. 1. Через двое суток животные были забиты; моча, кровь и костный мозг взяты на исследование.

Во всех опытах оценка выведения иттрия-91 из организма приведена в процентах от имеющегося в организме в момент исследования (за 100% принимали сумму активности во всех суточных выделениях, в тушке и отдельных пробах).

При планировании эксперимента и обработке полученных данных применен метод многофакторного дисперсионного анализа равномерных и неравномерных комплексов. Алгоритмы взяты из работы [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные предварительной серии опытов приведены на графике зависимости концентрации кальция сыворотки крови от времени, прошедшего от инъекции паратиреоидина, Na_2-ЭДТА и Са-ЭДТА (см. рисунок). Некоторое увеличение уровня кальция крови наступает уже через 0,5 *ч*, а резкое и стойкое повышение концентрации кальция по сравнению с нормой наблюдается на четвертом часу после инъекции (10,97±0,25% *мг* у контрольных крыс, в опыте — до 20,9±0,03 *мг*%), держится на этом уровне несколько часов и постепенно падает. Через 12 *ч* концентрация кальция в сыворотке крови еще достоверно повышена (12,95± ±0,9 *мг*%).

Введение 60 *мкгмолей* Na_2-ЭДТА (внутрибрюшинно) вызвало быстрое падение концентрации кальция плазмы крови, достигшее минимума через 20 *мин* после введения (8,5 *мг*%), а исходного уровня — через 2 *ч*. Са-ЭДТА существенного изменения уровня кальция плазмы не вызвал. При планировании эксперимента и его детальной разработке были использованы эти данные, показавшие пригодность взятых в опыт паратиреоидина и ЭДТА, и временные интервалы, в которые наиболее отчетливо проявляется их эффект на уровень кальция крови. Было учтено также, что 50% ЭДТА выводится через час, а за 5—6 *ч* выводится до 98% [10].

Данные опыта 1 основной серии (табл. 2) показывают влияние экстирпации желез внутренней секреции, участвующих в

регуляции обмена кальция, на обмен кальция и радиоиттрия, длительно депонированного в скелете. Концентрация кальция в сыворотке крови, взятой при забое во вторые сутки, составила 9,8±1,4 *мг*% у оперированных крыс, 10,7±1,1 *мг*% — у интактных, разница между группами недостоверна. Иттрия-91 в крови практически нет.

Выведение кальция с мочой оперированными и интактными крысами достоверно не различается и в первый (без дополнительных воздействий) и во второй день (когда были произведены инъекции ЭДТА). Выведение кальция интактными крысами составило 1,09±0,63 *мг* в первые сутки. Оперированные крысы за эти сутки выделили в среднем по 0,72±0,03 *мг* кальция. Во вторые сутки первые выделили 1,34±0,03 *мг* кальция, вторые — 1,28±0,03. Повышение выделения кальция во вторые сутки в обеих группах произошло за счет связывания кальция организма ЭДТА и выведения с комплексоном через почки.

Удаление желез достоверно понизило выведение иттрия-91 с мочой. Критерий достоверности (F_A=6,9) превышает первый порог вероятности безошибочных прогнозов (ν_1=1, ν_2=15, $F_{0,95}$=4,5). В совместном влиянии применения солей ЭДТА и интактной гормональной регуляции доля последней составляет 12,2%. Доля влияния комплексонотерапии 81,7%, случайных факторов 18%. Влияние сочетания градаций, т. е. зависимости действия солей ЭДТА от гормональной регуляции, мало (η^2_{AB}=0,05).

Имеется достоверное различие между действием натриевой и кальциевой солей ЭДТА. Средняя величина выведения при использовании Na_2-ЭДТА выше (4,11±1,86% по сравнению с 2,87±1,5% от депонированной в организме дозы). Данные опыта не позволили достоверно определить, за счет каких (мягких или скелетных) тканей произошло очищение организма от иттрия-91.

Данные второго опыта показаны на схеме (см. табл. 1) и в табл. 3 и 4. Во второй день второго опыта изучалось влияние удаления желез и введения паратиреоидина (в контроле — физиологического раствора). Удаление желез достоверно понизило выведение иттрия-91 с мочой (0,0104±0,0071 при интактной гормональной регуляции, 0,0060±0,0058 при экстирпации желез). Эмпирический критерий достоверности фактора *A* (удаление желез) превышает первый порог вероятности безошибочных прогнозов (F_A=5,625; ν_1=1, ν_2=18, $F_{0,95}$=4,4). В совместном влиянии введения паратиреоидина и интактной регуляции доля последней составляет 50,5% от суммарного влияния обоих факторов (η^2=0,3693), доля влияния паратиреоидина 24,75%. Действие паратиреоидина значительнее при отсутствии естественной гормональной регуляции (см. табл. 3). На третий день опыта концентрация кальция в крови оперированных крыс достоверно снизилась (8,9±0,8 *мг*%).

Таблица 2

Дисперсионный анализ влияния экстирпации желез внутренней секреции, регулирующих обмен кальция, и комплексона на выведение иттрия-91 с мочой

Факторы	A_1			A_2			$r_A=2$ $r_B=3$	Число средних g	Факторы	$\sum M_x$	$M_i=\frac{\sum M_x}{g}$	M_i^2
	B_1	B_2	B_3	B_1	B_2	B_3						
V	0,21 0,17 0,15	4,88 4,13 1,61	0,79 1,68 2,18	0,19 0,24 1,28 0,22	2,51 5,22 5,34 5,05	4,18 3,76 4,09 3,39	$N=21$	3	A_1	5,27	1,76	3,09
								3	A_2	8,87	2,96	8,74
n	3	3	3	4	4	4	$\sum n=21,00$	$H_A=\sum M_A^2=11,83$				
$\sum V$	0,53	10,62	4,65	1,93	18,12	15,42	$\sum V=51,27$					
$\sum V^2$	0,09	43,46	8,19	1,79	87,57	59,83	$\sum V^2=200,93$	2	B_1	0,66	0,33	0,11
$H_i=\frac{(\sum V)^2}{n}$	0,09	37,59	7,21	0,93	82,08	59,44	$\sum H_i=187,34$	2	B_2	8,07	4,04	16,32
$M_x=\frac{\sum V}{n}$	0,18 ±0,04	3,54 ±0,99	1,55 ±0,76	0,48 ±0,10	4,53 ±0,67	3,86 ±0,14	$\sum M_x=14,14$	2	B_3	5,41	2,71	7,34
M_x^2	0,03	12,53	2,40	0,23	20,52	14,90	$\sum M_x^2=50,61$	$H_B=\sum M_B^2=23,77$				

$$M=\frac{\sum M_z}{r_A\cdot r_B}=\frac{14,14}{6}=2,36 \quad M^2=5,57$$

$$C'_A=N\left(\frac{\sum M_A^2}{r_A}-M^2\right)=21\left(\frac{11,83}{2}-5,57\right)=7,25$$

$$H_\Sigma=\frac{(\sum V)^2}{n}=\frac{(51,27)^2}{21}=125,17$$

$$C_y=\sum V^2-H_\Sigma=200,93-125,17=75,76$$

$$C'_B=N\left(\frac{\sum M_B^2}{r_B}-M^2\right)=21\left(\frac{23,77}{3}-5,57\right)=49,42$$

$$C'_X=N\left(\frac{\sum M_x^2}{r_A\cdot r_B}-M^2\right)=21\left(\frac{50,61}{6}-5,57\right)=60,11$$

$$C'_{AB}=C'_x-C'_A-C'_B=3,5$$

$$C_z=\sum V^2-\sum H=200,93-187,34=13,59$$

$$C_x=\sum H_i-H_\Sigma=62,17$$

$$\alpha=\frac{C'_x}{C''_x}=\frac{62,17}{60,17}=1,03$$

	A	B	AB	x	z	y
C'	7,25	49,42	3,5	62,17	—	—
$C=\alpha\cdot C'$	7,47	50,9	3,61	78,33	13,59	75,76
$\eta_i^2=\frac{C_i}{C_y}$	0,10	0,67	0,05	0,82	0,18	1,00
ν	r_A-1 1	r_B-1 2	$\nu_A\cdot\nu_B$ 2	$r_A\cdot r_B-1$ 5	$N-r_A\cdot r_B$ 15	$N-1$ 20
$\sigma_i^2=\frac{C_i}{\nu_i}$	7,47	24,71	0,6	15,67	1,05	
$F_i=\frac{\sigma^2}{\sigma_z^2}$	6,9	23,5	0,6	14,92	—	

ν_2 \ ν_1	1	2	5
15	16,6	11,3	7,6
	8,7	6,4	4,6
	4,5	3,7	2,9

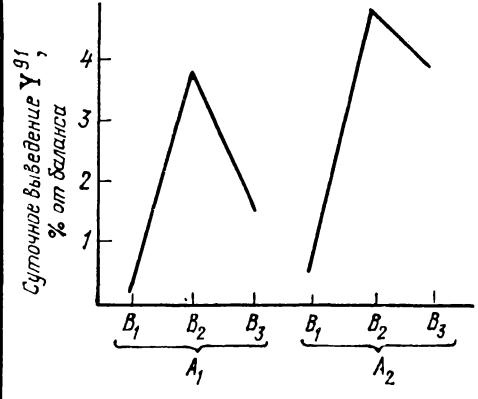


Таблица 3

Дисперсионный анализ влияния экстирпации желез внутренней секреции, регулирующих обмен кальция, и инъекций паратиреоидина на выведение иттрия-91

II день	A_1 — удаление желез		A_2 — ложная операция		$r_A=2$
	B_1 — физиол. р-р	B_2 — паратиреоидин	B_1 — физиол. р-р	B_2 — паратиреоидин	$r_B=2$
V	0,0486 0,0940 0,0716 0,0539 0,272 0,0378 0,0648	0,0664 0,0409 0,1163 0,1417 0,1294 0,0956	0,0683 0,1292 0,0894 0,1202	0,1201 0,1336 0,0946 0,0867 0,0695	
n	7	6	4	5	$\sum N=22$
$\sum V$	0,3979	0,5903	0,4071	0,5045	$\sum V=1,8998$
$\sum V^2$	0,0255	0,0655	0,0438	0,0534	$\sum V^2=0,1882$
$H_i=\frac{(\sum V)^2}{n}$	0,0226	0,0581	0,0414	0,0509	$\sum H_i=0,1730$
$M_x=\frac{\sum V}{n}$	0,0568	0,0984	0,1018	0,1009	$\sum M_x=0,3579$
M_x^2	0,0032	0,0097	0,0104	0,0102	$\sum M_x^2=0,0335$

Факторы	Число средних g	$\sum M_x$	$\frac{\sum M_x}{g}$	M_i^2
A_1	2	0,1552	0,0776	0,0060
A_2	2	0,2027	0,1014	0,0103
$H_A=\sum M_A^2=0,0163$				
B_1	2	0,1586	0,0793	0,0063
B_2	2	0,1993	0,0997	0,0099
$H_B=\sum M_B^2=0,0162$				

$$H_\Sigma=\frac{(\sum V)^2}{N}=0,1614$$

$$C_y=\sum V^2-H_\Sigma=0,0241$$

$$C_z=\sum V^2-\sum H_i=0,0152$$

$$M=\frac{\sum M_x}{r_A \cdot r_B}=\frac{0,3579}{4}=0,0895 \quad M^2=0,0080$$

$$C'_A=N\left(\frac{\sum M_A^2}{r_A}-M^2\right)=22\,(0,0002)=0,0044$$

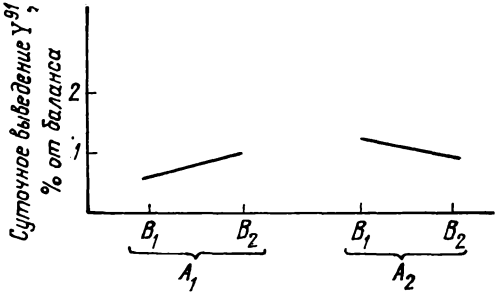
$$C'_A=N\left(\frac{\sum M_B^2}{r_B}-M^2\right)=0,0022$$

$$C'_{AB}=C'_x-C'_B-C'_A=0,0022$$

$$C'_x=N\left(\frac{\sum M_x^2}{r_A \cdot r_B}-M^2\right)=0,0088$$

$$C_x=\sum H_i-H_\Sigma=0,0089$$

$$\alpha=\frac{C_x}{C'_x}=1,0114$$



$\alpha = 1,0014$	A	B	AB	x	z	y
C'	0,0044	0,0022	0,0022	0,0088	—	—
$C=\alpha C'$	0,0045	0,0022	0,0022	0,0089	0,0152	0,0241
$\eta_i^2=\frac{C_i}{C_y}$	0,1867	0,0913	0,0913	0,3993	0,6307	1,0000
ν_i	$\frac{r_A-1}{1}$	$\frac{r_B-1}{1}$	$\frac{r_A \cdot r_B}{4}$	$\frac{r_A \cdot r_B-1}{3}$	$\frac{N-r_A}{18}$	$\frac{N-1}{21}$
$\sigma_i^2=\frac{C_i}{\nu_i}$	0,0045	0,0022	0,0006	0,0030	0,0008	—
$F_i=\frac{\sigma_i^2}{\sigma_z^2}$	5,6250	2,75	0,75	3,75		

ν_z \ ν_i	1	3
18	15,4	8,5
	8,3	5,1
	4,4	3,2

Таблица 4

Дисперсионный анализ влияния экстирпации желез внутренней секреции, регулирующих обмен кальция, и многократных инъекций комплексонов на выведение иттрия-91

IV—V день	A_1 — удаление желез			A_2 — ложная операция			$r_A=2$ $r_B=3$
	B_1—физиол. р-р	B_2 Na_2-ЭДТА	B_3 Ca-ЭДТА	B_1—физиол. р-р	B_2 Na_2-ЭДТА	B_3 Ca-ЭДТА	
V	0,2026 0,0976 0,1960 0,1754 0,1158 0,1906 0,0904 0,1426 0,0352 0,0674 0,0566 0,1804 0,2682	7,1462 8,9733 1,0033 5,4235 5,6733 9,3179 4,5711	7,6821 11,9881 6,1600 4,7702 4,7118 14,5472	0,0954 0,3126 0,1014 0,2128 0,1724 0,1790 0,1884 0,1744 0,1910	11,7884 11,7630 7,8095 6,1084	6,9280 6,4767 6,6273 6,8578 5,9956	
n	13	7	6	9	4	5	$\sum n=44$
$\sum V$	1,4856	42,1086	49,8594	1,6274	37,4693	32,8854	$\sum V=165,4357$
$\sum V^2$	0,3112	301,9139	497,2517	0,3265	375,6355	216,2899	$\sum V^2=1391,7287$
$H_i=\frac{(\sum V)^2}{n}$	0,1688	253,3049	414,3266	0,2943	350,9871	216,4959	$\sum H_i=1235,3726$
$M_x=\frac{\sum V}{n}$	0,1143	6,0155	8,3099	0,1808	9,3673	6,5771	$\sum M_x=30,5649$
M_x^2	0,0131	36,1862	69,0544	0,0327	87,7463	43,2582	$\sum M_x^2=236,2909$

Факторы	Число средних g	$\sum M_x$	$\frac{\sum_{i=1}^{g} M_x}{g}$	M^2
A_1	3	14,4397	4,8132	23,1669
A_2	3	16,1252	5,3751	28,8917
$H_A=\sum M_A^2=52,0586$				
B_1	2	0,2951	0,1476	0,0218
B_2	2	15,3828	7,6914	59,1576
B_3	2	14,8870	7,4435	55,4057
$H_B=\sum M_B^2=114,5851$				

$$M=\frac{M_x}{r_A\cdot r_B}=5{,}0942 \quad M^2=25{,}9509$$

$$C'_A=N\left(\frac{\sum M_A^2}{r_A}-M^2\right)=3{,}4496$$

$$C_B=N\left(\frac{\sum M_B^2}{r_B}-M^2\right)=538{,}7404$$

$$C'_x=N\left(\frac{\sum M_x^2}{r_A\cdot r_B}-M^2\right)=590{,}9596$$

$$C'_{AB}=C'_x-C'_A-C'_B=48{,}7696$$

$$H_\Sigma=\frac{(\sum V)^2}{n}=622{,}0221$$

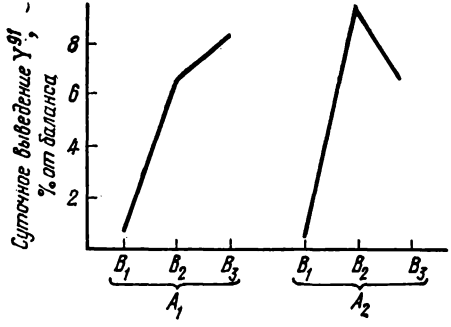
$$C_y=\sum V^2-H_\Sigma=769{,}7066$$

$$C_z=\sum V^2-\sum H_i=156{,}3561$$

$$C_x=\sum H_i-H_\Sigma=613{,}3505$$

$$\alpha=\frac{C_x}{C'_x}=1{,}0379$$

$\alpha=1{,}0379$	A	B	AB	x	z	y
C'	3,4496	538,7404	48,7696	590,9596	—	—
$C=\alpha C'$	3,5803	559,1587	50,6180	613,3570	156,3561	769,7066
$\eta_i^2=\frac{C}{C_y}$	0,0047	0,7265	0,0658	0,7969	0,2031	1,0000
ν_i	$\frac{r_A-1}{1}$	$\frac{r_B-1}{2}$	$\frac{r_A\cdot r_B}{6}$	$\frac{r_A\cdot r_B-1}{5}$	$\frac{N-r_A\cdot r_B}{38}$	$\frac{N-1}{43}$
$\sigma_i^2=\frac{C_i}{\nu_i}$	3,5803	279,5794	8,4363	122,6714	4,1146	—
$F_i=\frac{\sigma_i^2}{\sigma_z^2}$	0,8701	67,9481	2,0503	29,8139		



ν_z \ ν_i	1	2	5	6
38	12,9	8,5	5,3	4,9
	7,3	5,2	3,5	3,3
	4,1	3,2	2,5	2,3

Таблица 5

Дисперсионный анализ влияний комплексона и паратгормона на выведение кальция с мочой

Факторы	A_1		A_2		$r_A=2$ $r_B=2$	Факторы	Число средних g	$\sum M_x$	$\frac{\sum M_x}{g}$	M_i^2
	B_1	B_2	B_1	B_2						
V	0,80 2,75 3,04	0,44 0,28 1,29	0,62 0,89 1,38	0,30; 0,18; 0,50 0,44; 0,46; 0,35 0,32; 0,86; 0,17 0,17; 0,19; 0,56		A_1	2	2,87	1,44	2,07
						A_2	2	1,53	0,77	0,59
n	3	3	3	12	$N=21$	$H_A=\sum M_A^2=2,66$				
$\sum V$	6,59	2,01	2,89	4,5	$\sum N=15,99$					
$\sum V^2$	17,44	1,93	3,07	2,14	$\sum V^2=24,53$					
$H_i=\frac{(\sum V)^2}{n}$	14,48	1,35	2,78	1,69	$\sum H_i=20,30$	B_1	2	3,16	1,58	2,50
						B_2	2	1,24	0,62	0,38
$M_x=\frac{\sum V}{n}$	2,20 ±0,7	0,67 ±0,3	0,96 ±0,23	0,38 ±0,11	$\sum M_x=4,40$	$H_B=\sum M_B^2=2,88$				
M_x^2	4,84	0,45	0,92	0,32	$\sum M_x^2=6,53$					
$M=\frac{\sum M_x}{r_A \cdot r_B}=\frac{4,40}{4}=1,10$ $M^2=1,21$						$H_\Sigma=\frac{(\sum V)^2}{N}=\frac{(15,99)^2}{21}=12,18$				

$$C'_A = N\left(\frac{\sum M_A^2}{r_A} - M^2\right) = 21\left(\frac{2{,}66}{2} - 1{,}21\right) = 2{,}52$$

$$C_y = \sum V^2 - H_e = 24{,}58 - 12{,}18 = 12{,}40$$

$$C'_B = N\left(\frac{\sum M_B^2}{r_A} - M^2\right) = 21\left(\frac{2{,}88}{2} - 1{,}21\right) = 4{,}83$$

$$C_z = \sum V^2 - \sum H_i = 24{,}58 - 20{,}30 = 4{,}28$$

$$C_x = N\left(\frac{\sum M_x^2}{r_A \cdot r_B} - M^2\right) = 21\left(\frac{6{,}53}{4} - 1{,}21\right) = 8{,}87$$

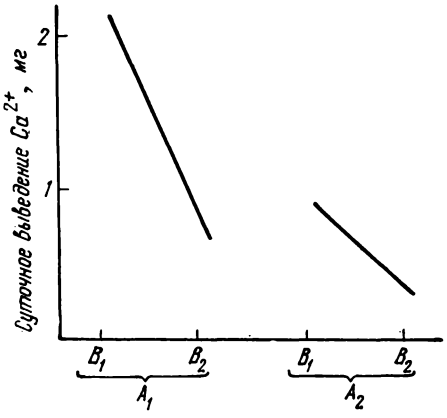
$$C_x = \sum H_i - H_e = 20{,}30 - 12{,}18 = 8{,}12$$

$$C'_{AB} = C'_x - C'_A - C'_B = 1{,}52$$

$$\alpha = \frac{C_x}{C'_x} = \frac{8{,}12}{8{,}87} = 0{,}92$$

	A	B	AB	x	z	y
C'	2,52	4,83	1,52	8,87	—	—
$C=\alpha \cdot C'$	2,32	4,44	1,40	8,16	4,28	12,44
$\eta_i^2 = \frac{C_i}{C_y}$	1,87	0,358	0,113	0,658	0,345	1,000
ν	$\frac{r_A - 1}{1}$	$\frac{r_B - 1}{1}$	$\frac{\nu_A \cdot \nu_B}{4}$	$\frac{r_A \cdot r_B - 1}{3}$	$\frac{N - r_A \cdot r_B}{17}$	$\frac{N-1}{20}$
$\sigma_i^2 = \frac{C_i}{\nu_i}$	2,32	4,44	1,40	2,72	0,252	
$F_i = \frac{\sigma_i^2}{\sigma_\Sigma^2}$	9,21	17,62	5,56	10,8		

ν_z \ ν_i	1	3	4
17	15,7	8,7	7,7
	8,4	5,2	4,7
	4,5	3,2	3,0



В четвертый и пятый дни опыта изучалось влияние многократных инъекций Na_2-ЭДТА и Са-ЭДТА у оперированных и ложнооперированных крыс. Установлено, что натриевая соль ЭДТА у крыс с интактной эндокринной регуляцией кальциевого обмена скелета повышает выведение радиоиттрия с мочой достоверно более интенсивно, чем кальциевая форма ЭДТА. Действительно, натриевая соль выводит 9,38±1,432% от баланса, кальциевая соль 6,58±1,02%. Эмпирический критерий достоверности (F_d=6,95) превышает первый порог вероятности безошибочных прогнозов ($F_{0,95}$=4,4). При отсутствии естественной гормональной регуляции этот эффект не наблюдается: Na_2-ЭДТА выводит 6,0155±1,0759, Са-ЭДТА — 8,3099±1,3247 (F_d=4,13 при $F_{0,95}$=4,4).

Данные дополнительного эксперимента (см. табл. 1) показывают совместное и раздельное влияние гормона и ЭДТА на обмен стабильного кальция организма и радиоиттрия, депонированного сравнительно кратковременно — 8 суток.

В сыворотке крови концентрация кальция определена до и после озоления. Средняя концентрация кальция в сыворотке крови до озоления 11,58±0,6 *мг*%, после озоления 11,96±±1,18 *мг*%, различие статистически незначимо. Данные по озоленной сыворотке использованы для оценки влияния изучаемых воздействий: первый фактор (A) — введение паратиреоидина, второй фактор (B) — введение Na_2-ЭДТА. Суммарное действие организованных факторов составило 83,4% (η_x^2=0,834). Из двух организованных факторов статистически достоверно влияние на уровень кальция сыворотки крови только одного — введения паратиреоидина. Сила его влияния 81,6% (η_A^2=0,816). Влияние фактора B (действие Na_2-ЭДТА) и сочетаний градаций факторов незначительно: средняя концентрация кальция в сыворотке крови у крыс, которым вводился паратиреоидин, 12,95±0,90 *мг*%; у крыс, которым не вводился паратиреоидин, 10,97±0,25 *мг*%.

Для выяснения силы и достоверности гормонального воздействия (фактор A) и воздействия комплексона (фактор B) на выведение кальция с мочой был организован двухфакторный комплекс. Обработка опытных данных (табл. 5) показала, что статистически достоверны как влияния обоих факторов (F_A==9,21; F_B=17,62), так и взаимодействия градаций обоих факторов (F_{AB}=5,56, $F_{\text{станд}}$=2,9 — 4,5 — 7,3). Таким образом, как комплексон, так и гормон достоверно повышают выведение кальция с мочой, при одновременном же применении они взаимно усиливают друг друга. На суммарное их влияние приходится 65,8% (η =0,658), из них доля влияния гормонального воздействия 28,4%, комплексона 54,4%. Влияние сочетания данных градаций составляет 17,2%.

При озолении мочи определяемая концентрация кальция

изменялась в зависимости от примененных воздействий. У интактных крыс и у животных, получавших тиреоидин, численное значение суточного выведения кальция с мочой существенно не изменилось, а в группе крыс, получивших паратиреоидин и комплексон, возросло в 7 раз: 0,30±0,09 *мг* до озоления, 2,20±0,67 *мг* после озоления. В группе крыс с инъекцией Na_2-ЭДТА численное значение суточного выведения кальция с мочой возросло в 8 раз: 0,12±0,03 *мг* до озоления и 0,96±0,23 *мг* после.

Для оценки достоверности и силы влияния гормонального фактора (*A*) и воздействия комплексона (*B*) на величину выведения иттрия с мочой был проведен дисперсионный анализ неравномерного комплекса. Обнаружено, что достоверно на суточное выведение с мочой иттрия-91 влияет только второй фактор: применение комплексона значительно повышает суточное выведение иттрия-91 с мочой. Так же достоверно отсутствие влияния взаимодействия градаций. Суммарное влияние организованных факторов составило 97±0,006%. Все влияние фактически приходится на второй фактор (введение комплексона).

Анализ приведенных данных убедительно свидетельствует об участии гормональных систем, управляющих обменом кальция организма и скелета, в метаболизме иттрия-91 в поздние сроки его депонирования.

Действительно, примененные воздействия вызывают резкие сдвиги в кальциевом обмене. Тирео-паратирео-сиалоаденэктомия приводит к лишению организма гормональной регуляции обмена кальция. Концентрация кальция в сыворотке крови устанавливается при этом на базальном уровне — 8,2±0,8 *мг*%. Предполагают [11], что он обеспечивается такими физико-химическими факторами, как способность костной ткани скелета к поддержанию равновесной концентрации кальция в среде, а также деятельностью экскреторных органов, сорбционно-десорбционными свойствами других тканей. В специальных экспериментах in vitro было показано, что нативные скелетные поверхности костных фрагментов, погруженные в раствор кальция с концентрацией 10 *мг*%, за 10 суток снижали ее до 5,2 *мг*% (подобные же результаты приведены в [12]). Уровень кальция в сыворотке крови и в 8%-ном растворе альбумина при тех же условиях опыта не изменился, что подчеркивает буферное значение белков, связывающих ионизированный кальций.

Выведение кальция с мочой после операции в наших опытах существенно не изменилось. Однократное введение паратиреоидина вызывало подъем уровня Ca^{2+} крови с максимумом через 4—6 *ч* после введения, продолжающийся около суток. Натриевая форма ЭДТА понижала Ca^{2+} крови на 2—3 *ч*. Ожидалось, что снижение концентрации ионов кальция в крови вызовет усиление активности паращитовидной железы и в результате — увеличение поступления Ca^{2+} в кровь. Однако двухфазности в дей-

ствии ЭДТА выявить не удалось (не найдена она [11] и при других дозах ЭДТА).

Однократное введение натриевой или кальциевой соли ЭДТА приводило к одинаковому выведению кальция. Не весь выделяющийся с мочой Ca^{2+} связан с комплексоном. При одновременном применении Na_2-ЭДТА и паратиреоидина наблюдается не только *суммация*, но и взаимное усиление эффекта. Доля не связанного ЭДТА Ca^{2+}, выделяющегося через почки, в этом случае значительно возрастает.

Эти сдвиги обмена кальция в некоторых обстоятельствах сопровождаются существенными изменениями выведения через почки иттрия-91, в других — изменений обмена радиоиттрия не наблюдается. Так, выведение изотопа после операции достоверно снизилось. Паратиреоидин усиливает экскрецию иттрия-91, причем заметнее после удаления желез внутренней секреции. В действии натриевой и кальциевой соли хелата найдено отличие даже при однократной инъекции; Na_2-ЭДТА заметно действенней. Более существенное его преимущество в выведении получено при многократных инъекциях в течение двух суток, но при отсутствии эндокринного аппарата оно не проявляется, а паратиреоидный гормон компенсирует последствия оперативного удаления желез внутренней секреции.

В то же время при относительно кратковременном (8 суток) депонировании радиоиттрия паратиреоидный гормон не влияет на его экскрецию и не усиливает действия ЭДТА. Комплексон же, введенный в ранние сроки депонирования, значительно эффективней.

Приведенные факты легко объединяются в общую картину, если принять исходное представление о связи обмена иттрия-91 с кальциевым обменом скелета. При удалении желез внутренней секреции ослабляется процесс перестройки скелета, уменьшается количество резорбируемых локусов в кости и количество радиоактивного вещества, выводимого в кровь. Можно также полагать, что при снятии эндокринной регуляции ослабляется кровоток через кость. Оба фактора могут действовать одновременно, и выделить роль каждого из них пока невозможно. ЭДТА в таких условиях встречает в жидких средах организма меньше доступного для комплексования радиоактивного материала, следовательно, и меньше выводит его из организма; инъекция паратиреоидина должна усиливать процессы ремоделирования в скелете.

У интактных животных также следовало ожидать усиления выделения радиоиттрия при применении тиреоидина; многократные инъекции Na_2-ЭДТА вследствие кальципривного действия должны вызывать функциональное напряжение паращитовидных желез, т. е. давать эффект, подобный совместному введению паратгормона и комплексона. Сравнивая ожидаемые результаты с полученными, убеждаемся в достаточно хорошем их соответ-

ствии. Опираясь на приведенные данные, мы можем утверждать, что выведение иттрия-91 у крыс через четыре месяца после его поступления в организм происходит не только из мягких тканей, но и из скелета, и этот процесс можно стимулировать.

В ранние сроки инкорпорирования уловить выход иттрия-91 из скелета под влиянием гормональных воздействий трудно из-за высокого содержания его в мягких тканях, где он связан более лабильно.

Если роль паращитовидной железы в описанных процессах ясна, то значение для них инкреторного аппарата сиаловых и щитовидной желез требует разработки. Для выяснения интимных механизмов выведения остеотропных элементов из скелетных депо представляют интерес данные о химическом составе околокостной жидкой среды, через которую идут все метаболические процессы. Мы получили высокие значения концентраций стабильного кальция в тканевой среде костного мозга (30—40 *мг*%), отражающие, очевидно, состояние собственной межуточной среды скелета (концентрация кальция в тканевой среде селезенки и печени меньше 10 *мг*%).

Выводы

1. Проведено экспериментальное исследование влияния эндокринной регуляции обмена кальция скелета на судьбу иттрия-91, длительно инкорпорированного в организме. Установлено, что под влиянием одновременной экстирпации паращитовидных, щитовидной и слюнных желез (лишение животных гормонального аппарата кальциевого обмена) происходит достоверное снижение выведения радиоиттрия, а также уменьшение эффекта ЭДТА.

2. Введение паратиреоидного гормона (паратиреоидина) увеличивает выведение радиоиттрия и способствует усилению эффекта ЭДТА.

3. Многократные инъекции Na_2-ЭДТА стимулируют обмен кальция скелета подобно введению паратиреоидина и этим оказывают (дополнительно к прямому) косвенный усиливающий эффект на выделение иттрия-91.

4. Для терапевтического применения при длительном инкорпорировании иттрия-91, а также остеотропных лантаноидов и актиноидов целесообразно испытать сочетание достаточно частых (или непрерывных) инъекций комплексонов и гормональных препаратов, стимулирующих резорбцию скелета.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. H. Copp, D. J. Axelrod, J. Y. Hamilton. Amer. Roentg. Rad. Therap., 1947, **58**, 10.
2. Д. И. Семенов. Бюлл. Урал. отд. МОИП. Свердловск, 1958, 19.
3. A. Catsh. Therapeutische Grundlagen. Munsh. Thiemig., 1968.

4. О. Н. Сукманский. Успехи физиологических наук, 1972, 3, 64.
5. А. И. Брискин. Эндокринная регуляция обмена кальция в организме. М., 1971.
6. D. H. Copp. J. Endocrinol., 1969, 43, 137.
7. F. C. McLean, M. R. Urist. Bone an Introduction to the Physiology of Skeletae tissue. Chicago, 1955.
8. R. J. Wilkinson. Chin. Path., 1957, 10, 126.
9. Н. А. Плохинский. Биометрия. М., Изд-во МГУ, 1970.
10. M. Rubin. The Transfer of Calcium and Strontium across Biological Membranes. N. Y.— London, Academic Press, 1969, 25.
11. H. Foreman, M. Vier, M. Magee. J. Biol. Chem., 1953, 203, 1045.
12. У. Ньюман, М. Ньюман. Минеральный обмен кости. М., Изд-во иностр. лит., 1961.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 616 : 008.927.9 : 073.916

Я. Б. КОЗИН, В. Д. ТАРАСЕНКО,
И. В. ЧУСОВИТИНА

ПРОСТОЙ СПОСОБ РЕАЛИЗАЦИИ СПЕКТРОМЕТРИИ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА В ПОВСЕДНЕВНОЙ ПРАКТИКЕ

Для исследования метаболизма меченых соединений in vivo необходимо определение общего количества инкорпорированного радиоактивного излучателя с помощью спектрометров гамма-излучения человека (СИЧ). Основная сложность указанной спектрометрии связана с анизотропией излучателя в рассеивающей и поглощающей среде, размеры которой превышают длину свободного пробега гамма-квантов, в силу чего точность спектрометрии на большинстве известных конструкций СИЧ [1] невысока.

Жесткость клинических требований к точности спектрометрии излучения человека, с одной стороны, и трудность ее реализации в связи с ограниченным выпуском известных конструкций СИЧ и отсутствием обоснованных рекомендаций по их применению — с другой, диктуют необходимость разработки СИЧ с требуемыми клинико-метрологическими качествами.

Задача разработки прецизионного СИЧ представляет собой вариационную задачу минимизации функционала, описывающего погрешность спектрометрии анизотропно инкорпорированного излучателя, решение которой известными численными методами [2] дает оптимальные значения управляемых параметров, обеспечивающих необходимую точность спектрометрии.

Для реализации спектрометрии гамма-излучения человека в повседневной практике была решена задача по оптимизации параметров спектрометрического тракта СИЧ на основе функциональных блоков комплекса «Гамма» (ВНР), используемого для оснащения лабораторий радиоизотопной диагностики.

На базе типовых приборов разработан СИЧ с оптимизированными параметрами (рис. 1), функциональная схема которого включает в себя четыре неколлимированных сцинтиблока типа

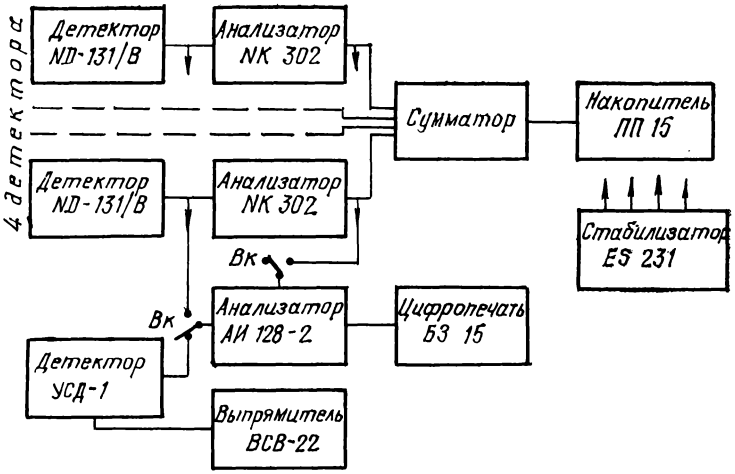


Рис. 1. Функциональная схема клинического СИЧ.

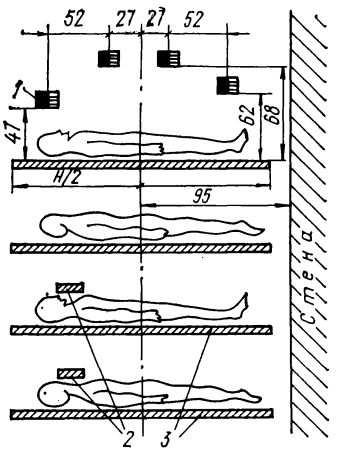
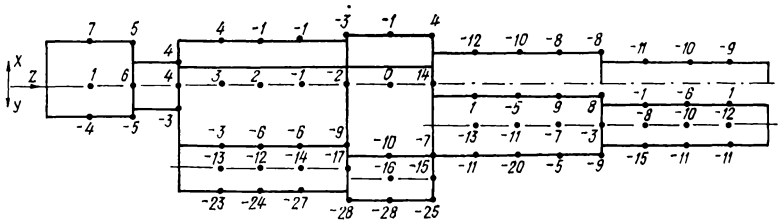


Рис. 2. Размещение детекторов СИЧ и экрана щитовидной железы при спектрометрии человека.

1 — детектор, *2* — экран, *3* — тепевая защита. *Цифры на рисунке* — размеры, *см*.

Рис. 3. Относительная анизотропия эффективности (% к эффективности в центре тела) клинического СИЧ при спектрометрии инкорпорированного I^{131} (фантомные измерения).



ND-131/B, состоящих из сцинтиллятора NaI (Tl) 40×40 *мм*, фотоумножителя FS52A и предусилителя. В качестве дискриминаторов, работа которых предусматривает режимы как дифференциального, так и интегрального счета, использованы блоки NK 302, нагрузкой которых является суммирующая схема и пересчетный прибор ПП-15, имеющий требуемую емкость сумматора и таймерное устройство с удобными временными интервалами.

Полученные оптимальные параметры размещения детекторов вокруг тела (рис. 2) обеспечиваются фиксацией детекторов с помощью модифицированных стоек, входящих в комплекс «Гамма».

При использовании СИЧ в исследованиях кинетики инкорпорированных гамма-излучателей спектрометрия осуществляется при дискриминации только «снизу», причем величина нижней границы энергетического канала равна 100 *кэв*, что соответствует оптимальному значению.

Оптимизированный клинический СИЧ имеет эффективность регистрации излучения Cs^{137}, равную $1{,}13\times10^{-3}$ *имп/сек*, причем в диапазоне используемых излучателей зависимость ее от энергии гамма-излучения индикатора и конституции человека незначительна, что достигается широким энергетическим каналом спектрометрии.

Физико-техническая апробация СИЧ осуществлена с помощью специально изготовленного 66-секционного гомогенного парафинового фантома, приближенно описывающего конфигурацию «стандартного» человека. Один из блоков каждого сечения фантома имеет гнезда для помещения капсул диаметром 5 *мм* с применяемым меченым соединением, имитирующих точечный изотропный источник, с помощью которых осуществлялось изучение эффективности спектрометрии СИЧ и ее анизотропии. В частности, анизотропия эффективности СИЧ при спектрометрии I^{131} (рис. 3) показывает, что по изотропности эффективности используемый СИЧ не уступает лучшим известным образцам спектрометров [3].

Фон оптимизированного СИЧ составляет 5×10^2 *имп/сек* и в силу своего происхождения практически постоянен; вариабельность фона, обусловленная экранировкой естественного гамма-излучения лаборатории телом человека, снижена введением теневой защиты в виде свинцового покрытия кушетки, на которой размещается обследуемый.

В результате проведенной клинической спектрометрии установлено, что при произвольной анизотропии инкорпорированного гамма-излучателя активностью выше 5,0 *мккюри* измерения в течение 200 *сек* при двойном доверительном интервале осуществляются с погрешностью менее 10%.

СИЧ укомплектован «органными» теневыми экранами, с помощью которых при дополнительной спектрометрии с различной

степенью точности определяется содержание радиоиндикатора в отдельных органах, что делает спектрометр универсальным.

Таким образом, в результате разработки и оптимизации основных параметров СИЧ появилась возможность широкой реализации методов клинической радиодиагностики, основанных на использовании спектрометрии инкорпорированных гамма-излучателей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Directory of Whole Body Radioactivity Monitors, IAEA. Vienna, 1970.
2. Г. Корн, Т. Корн. Справочник по математике для научных работников и инженеров. М., 1970.
3. S. H. Cohn, C. S. Dombrovski, H. R. Pate, I. S. Robertson. Phys. Med. Biol., 1969, 4, 645.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 616 : 073.916

В. Д. ТАРАСЕНКО, Я. Б. КОЗИН, А. И. МЕЗЕНЦЕВ, И. В. ЧУСОВИТИНА

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИНКОРПОРИРОВАННОГО ЙОДА-131 В НОРМЕ И ПРИ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

Вопросы метаболизма йода в норме и при патологии щитовидной железы довольно полно представлены в литературе [1—7], тем не менее отсутствуют данные о распределении инкорпорированного йода-131 при различной функциональной активности щитовидной железы у жителей Среднего Урала.

Исследован обмен йода-131 у 102 пациентов: 25 больных тяжелой формой тиреотоксикоза (1-я группа), 39 больных легкой формой тиреотоксикоза (2-я группа), 14 больных эндемическим зобом (3-я группа) и 24 клинически здоровых лиц (в 4-ю группу вошли сотрудники клиники, студенты-медики, а также пациенты, не принимавшие фармпрепараты, у которых на основании дальнейших клинико-лабораторных и специальных радиодиагностических исследований заболевания щитовидной железы были исключены).

Методика исследования состояла в следующем. После предварительного тщательного клинико-лабораторного обследования пациенту вводили внутривенно 2—3 *мл* стерильного раствора йодида натрия, содержащего 40—70 *мккюри* йода-131 (количество вводимого йода лимитировано удельной активностью тиреоидной ткани на день сканнографического исследования). Измерение йода во всем теле проводилось с помощью спектрометра излучений человека (СИЧ) [1] в интервале со второй по двадцатую минуту (период равномерного распределения радиоиндикатора в крови) и через 2, 24 и 48 *ч*. Данные о радиоактивности щитовидной железы получены в результате дополнительной спек-

[1] См. статью Я. Б. Козина, В. Д. Тарасенко и И. В. Чусовитиной «Простой способ реализации спектрометрии гамма-излучения человека в повседневной практике» в настоящем сборнике.

Радиодиагностические параметры при различных формах тиреотоксикоза, эндемическом зобе и в норме

Группы	Группы обследованных	Параметры	Площадь щитовидной железы, $см^2$	Интратиреоидный этап обмена йода			
				U_{24} — тест (I^{131} введен через рот, измерение — ДСУ), %	Тесты поглощения (I^{131} введен в/в, измерение СИЧ), %		
					U_2	U_{24}	U_{48}
1	Больные тяжелой формой тиреотоксикоза (25)	А*	22,6±1,4	60,9±2,0	46,2±2,7	56,8±2,2	53,7±2,2
		Б	(19,7÷25,5)	(56,8÷64,8)	(40,7÷51,7)	(52,3÷61,4)	(49,2÷58,2)
	Коэффициент Стьюдента	В	3,74	15,61	11,55	11,43	11,28
		Г	(2,06)	(2,06)	(2,06)	(2,06)	(2,06)
2	Больные легкой формой тиреотоксикоза (39)	А	22,1±1,1	51,2±2,7	29,3±3,1	44,3±3,5	42,2±3,2
		Б	(19,8÷24,4)	(45,8÷56,6)	(23,0÷35,7)	(37,1÷51,4)	(35,8÷48,6)
	Коэффициент Стьюдента	В	4,06	8,89	4,76	4,87	6,07
		Г	(2,03)	(2,03)	(2,03)	(2,03)	(2,03)
3	Больные эндемическим зобом (14)	А	23,1±2,3	41,1±1,7	14,5±0,7	26,8±1,7	29,9±1,6
		Б	(18,1÷28,0)	(37,4÷44,8)	(12,9÷16,1)	(23,0÷30,5)	(26,4÷33,4)
	Коэффициент Стьюдента	В	2,59	7,60	0,54	0,63	2,45
		Г	(2,15)	(2,13)	(2,11)	(2,12)	(2,12)
4	Клинически здоровые лица (24)	А	16,9±0,5	25,3±1,1	13,9±0,8	25,2±1,7	24,7±1,3
		Б	(15,8÷18,1)	(22,9÷27,7)	(12,2÷15,6)	(21,8÷28,7)	(22,0÷27,5)

Группы	Группы обследованных	Параметры	Транспортно-органический этап (48 ч исследования)			Периферический этап	Суммарные показатели		
							Активность всего тела, % к введенному		Активность экстратиреоидных тканей и крови через 48 ч, %
			I^{131} в ОЦК, %	I^{131} в 1 л плазмы, %	БСИ-131 в 1 л плазмы, %	I^{131} в экстратиреоидных тканях через 48 ч, %	24 ч	48 ч	
1	Больные тяжелой формой тиреотоксикоза (25)	А Б	2,43±0,30 (1,80÷3,06)	0,99±0,11 (0,75÷1,22)	0,78±0,11 (0,56÷1,0)	23,1±1,9 (19,3÷27,1)	81,6±2,0 (77,4÷85,8)	78,2±2,1 (73,9÷82,5)	24,5±1,6 (21,2÷27,8)
	Коэффициент Стьюдента	В Г	6,97 (2,09)	7,69 (2,09)	6,60 (2,09)	8,67 (2,09)	16,13 (2,06)	18,21 (2,06)	10,34 (2,06)
2	Больные легкой формой тиреотоксикоза (39)	А Б	0,64±0,09 (0,47÷0,82)	0,26±0,04 (0,18÷0,34)	0,18±0,02 (0,13÷0,22)	6,4±0,9 (4,6÷8,2)	54,8±2,9 (48,9÷60,8)	49,1±3,1 (42,9÷55,4)	6,9—0,8 (5,3±8,6)
	Коэффициент Стьюдента	В Г	3,36 (2,04)	3,38 (2,04)	3,84 (2,04)	0,96 (2,04)	5,07 (2,04)	5,22 (2,03)	0,48 (2,04)
3	Больные эндемическим зобом (14)	А Б	0,34±0,04 (0,26÷0,43)	0,13±0,02 (0,09÷0,18)	0,11±0,02 (0,06÷0,15)	8,0±1,5 (4,7÷11,3)	41,4±2,0 (37,2÷45,6)	38,2±1,8 (34,3÷42,2)	8,3±1,5 (5,0÷11,6)
	Коэффициент Стьюдента	В Г	0,44 (2,11)	0,49 (2,12)	1,41 (2,13)	1,12 (2,15)	1,57 (2,12)	2,98 (2,12)	1,13 (2,14)
4	Клинически здоровые лица (24)	А Б	0,32±0,04 (0,23÷0,41)	0,12±0,02 (0,09÷0,16)	0,07±0,01 (0,05÷0,10)	6,1±0,66 (4,7÷7,5)	37,2±1,9 (33,3÷41,0)	31,2±1,5 (28,0÷34,3)	6,4±0,7 (5,0÷7,8)

* А — средняя арифметическая ($\bar{x}$) и среднее квадратическое отклонение (m); Б — доверительный интервал при P=95%; В — коэффициент Стьюдента в гипотезе о равенстве средних при сравнении переменных исследуемой группы с группой клинически здоровых лиц; Г — значение коэффициента Стьюдента при P=95%.

трометрии излучения обследуемого при экранировании щитовидной железы.

Для оценки распределения инкорпорированного йода-131 в периферических тканях и крови через 48 *ч* после введения йода брали образцы крови (10 *мл*) и проводили определение общего йода в колодезном сцинтилляционном гамма-спектрометре, после чего рассчитывали содержание йода-131 в полном объеме циркулирующей крови (ОЦК). Для определения объема циркулирующей крови использовалось уравнение

$$\text{ОЦК}(л) = -5{,}3586 + 0{,}0510 \text{ рост } (см) + 0{,}0233 \text{ вес } (кг),$$

полученное нами при исследовании ОЦК у 39 пациентов [2] с помощью известного метода расчета по степени разведения альбумина, меченного йодом-131. В последующем отделяли плазму и определяли содержание общего йода в плазме. С помощью трихлоруксусной кислоты производили разделение общего йода плазмы на белковосвязанный йод (СБЙ-131) и йод-131, не связанный с белком (йод надосадочной жидкости). Полученные результаты выражались в процентах к активности введенного йода-131. Характер распределения йода в щитовидной железе и ее биометрические данные получены в результате сценнографических исследований.

Изучено 45 радиодиагностических параметров, характеризующих метаболизм йода в организме человека. Из них отобрано 12 наиболее информативных, которые представлены в таблице.

Установлено, что у клинически здоровых лиц через 48 *ч* после внутривенного введения йода-131 во всем теле определяется 31,2±1,5%: на долю щитовидной железы (U_{48}) приходится 24,7±1,3%; периферических (экстратиреоидных) тканей 6,1±0,66%; ОЦК 0,32±0,04%; процент йода-131 в 1 *л* плазмы 0,12±0,02; процент СБЙ-131 на 1 *л* плазмы 0,07±0,01.

При тяжелой форме тиреотоксикоза содержание йода во всем теле и в щитовидной железе увеличивается более чем в 2 раза, активность ОЦК повышается в 8 раз, в 11 раз возрастает процент СБЙ-131, в 4 раза увеличивается активность экстратиреоидных тканей.

Легкая форма тиреотоксикоза сопровождается повышением содержания йода в тиреоидной ткани, умеренным его повышением в крови и нормальным содержанием в экстратиреоидных тканях.

У больных эндемическим зобом активность всего тела несколько возрастает за счет небольшого увеличения активности щитовидной железы.

---

[2] Возраст обследованных пациентов 44,8±1,8(41,1—48,5); рост 168,6±±1,1(166,4—170,8); вес 68,4±1,3(65,8—71,1); поверхность тела 1,78±0,02 (1,74—1,82).

Из 64 (100%) больных тиреотоксикозом в 39,1% (больные тяжелой формой тиреотоксикоза) случаев выявлены нарушения обмена йода на уровне щитовидной железы, крови и периферических тканей, у 32,8% больных — на уровне щитовидной железы и крови и у 28,1% — только на уровне щитовидной железы.

У больных тиреотоксикозом с увеличением размеров щитовидной железы снижается содержание несвязанного с белком йода-131 в плазме, что, по-видимому, подтверждает известное положение о большой вероятности развития токсического (диффузного или узлового) зоба из эндемического.

Таким образом, использование спектрометрии гамма-излучения человека и гамма-спектрометрии образцов крови и ее дериватов позволяет не только осуществить наблюдение за интимными процессами метаболизма йода, но и дать их количественную оценку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Я. Х. Туракулов. Биохимия и патохимия щитовидной железы. Ташкент, 1963.
2. С. М. Лейтес. Патофизиология щитовидной и околощитовидных желез. М., 1965.
3. С. М. Лейтес, Н. Н. Лаптева. Очерки по патофизиологии обмена веществ и эндокринной системы. М., 1967.
4. С. С. Вернер. Щитовидная железа. Л., 1963.
5. P. Plannestiel, G. Hoffmann. Landarzt, 1969, **45**, N 33, 1579.
6. B. Rapoport, L. De Groot. Seminars Nucl. Med., 1971, **1**, N 3, 265.
7. H. Deckart. Die Schilddrüse. Berlin, 1972, 95.

■

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 591.481.1/615.849.5

А. И. МЕЗЕНЦЕВ, Я. М. СОСКИН,
В. А. ПАЛКИН

ОБ УЧАСТИИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

(авторадиографическое исследование)

Участие глиальных клеток в процессах регенерации в нервной ткани общепризнано. Многие исследователи наблюдали размножение глиоцитов. Однако глиальные клетки многообразны по своей морфологии и функции. Об участии астроцитов в образовании глиозного рубца при заживлении ран головного мозга писал еще П. Е. Снесарев [1].

Нами была показана роль субэпендимарной глии в регенераторном процессе при заживлении небольших повреждений коры больших полушарий у крыс [2—4]. Эта область соответствует локализации зоны матрикса [5, 6], где имеются клетки, способные к пролиферации и миграции. С возрастом животных пролиферативная активность снижается, хотя зона матрикса функционирует и постнатально.

Другим источником образования глиального компонента рубца является перинейрональная микроглия. Это клетки-сателлиты, которые тесно прилегают к нейронам. Занимаясь микрометрией, мы определили их размер, который в среднем равен 4—7 *мк* [4]. В то же время они близко расположены и к капиллярам. Поэтому в случае кариокинеза их трудно отличить от эндотелиальных клеток. Такое промежуточное положение этих клеток между нейронами и капиллярами косвенно указывает на их роль в транспортных процессах. Хорошо выявляются тела этих клеток при применении импрегнационных методик.

Мы исследовали пролиферативную активность глиальных клеток в различные сроки после механического повреждения коры мозга в теменной области как у облученных (600 *р*), так и у необлученных половозрелых белых крыс-самцов. Операцию повреждения мозга производили под общим наркозом в асептических условиях. Животных забивали путем декапитации через

1, 2, 4, 6, 14, 18 суток после начала эксперимента. За 4 *ч* до этого вводили изотоп АК618164 H^3-тимидина из расчета по 1 *мккюри* на 1 *г* веса животного. Для получения автографов была использована методика жидкой эмульсии Н. Д. Грачевой [7], в лаборатории которой была проведена значительная часть эксперимента. Срезы после проявления докрашивались гематоксилин-эозином по Нисслю.

Через 4 суток после начала эксперимента в окружности раны мы видели 25—30 радиоактивных ядер в срезе у необлученных крыс и 11—14 — при общем облучении животных. Эти меченые клетки относились преимущественно к перинейрональным микроглиоцитам в некотором отдалении от краев раны и к сосудистым клеткам грануляционной ткани непосредственно в зоне повреждения. Через 18 суток после повреждения мозга количество радиоактивных ядер снижалось до 7—9 в срезе у необлученных крыс, а у облученных — еще меньше. К этому времени в области повреждения имелись четкие компоненты глиально-мезодермального рубца. Характерно, что в поздние сроки после повреждения мозга мы видели радиоактивные ядра микроглии как в перинейрональной области, так и в зоне нейропиля. В ранние же сроки меченые ядра локализовались преимущественно перинейронально. Это подтверждает предположение [8] о миграционных свойствах и этого вида глии. Видимо, перинейрональная микроглия, как и субэпендимарная глия, мигрирует к ране мозга, чтобы принять участие в формировании рубца.

В заключение отметим, что в образовании глиального компонента рубца в ранах мозга участвуют как местные, локальные глиоциты, так и пришлые глиальные клетки, обладающие способностью к миграции. В регенерации участвуют как крупные глиоциты типа астроглии, так и микроглии. При лучевой болезни регенераторный процесс протекает замедленно, но полностью не угнетается. При общем облучении в процессе регенерации встречались патологические фигуры митоза: рассеивание хромосом и их фрагментоз в метафазе склеивание, комкование хромосом в метафазной пластинке, образование мостов в анафазе.

ЛИТЕРАТУРА

1. П. Е. Снесарев. Общая гистопатология лучевой травмы. М., 1946.
2. А. И. Мезенцев, Я. М. Соскин, В. А. Палкин. Восстановительные и компенсаторные процессы при лучевых повреждениях. Материалы 5-й Всесоюзной конференции. Л., 1969, 106.
3. В. А. Палкин, А. И. Мезенцев, Я. М. Соскин. Вопросы радиационной медицины. Свердловск, 1970, 22.
4. Я. М. Соскин, В. А. Палкин. Реактивные и регенеративные процессы в нервной системе. Тбилиси, 1971, 171.
5. W. Kirshe. Z. Mikroskopi-anat. Vorsch., 1967, 77, 313.
6. В. Рихтер. Реактивные и регенеративные процессы в нервной системе. Тбилиси, 1971, 71.
7. Н. Д. Грачева. Пособие по гистоавторадиографии. Л., 1960.
8. G. Kreutzberg. Mitteilungen Max — Plank — Geselschaft., 1973, 6, 390.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ · 1976

УДК 615.849—537.363

Р. Н. БИКТИМИРОВ, В. Р. ЛУКАШОВ, В. М. ГРУШКОВ,
А. И. МЕЗЕНЦЕВ,
А. С. БАРЫБИН, И. Е. ОРАНСКИЙ

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОАКТИВНОГО ЙОДА ПРИ ИЗУЧЕНИИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ СТОРОН ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ИЗ СРЕДЫ НЕВОДНЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ — «СУПЕРЭЛЕКТРОФОРЕЗ»

Методы радиоактивной диагностики за последние годы широко используются в различных областях медицины. С помощью радиоактивной индикации можно наиболее точно проводить исследования, позволяющие, в частности, судить о проникающей способности веществ через кожу при введении их в организм постоянным гальваническим током (метод электрофореза), мы использовали радиоактивные изотопы для решения вопросов количественной стороны электрофореза.

В изучении разных аспектов проблемы лечебного электрофореза много нового внесли отечественные физиотерапевты, применившие в своих работах радиоактивные индикаторы [1—4].

В прежних исследованиях с помощью радиоактивных изотопов выяснялось значение концентрации рабочего раствора, плотности тока, продолжительности процедуры, распределение изотопа в тканях организма. В лечебном эффекте лекарственного электрофореза немаловажное значение имеет количество введенного гальваническим током лекарственного вещества. Вопрос о количественной стороне лечебного электрофореза остается актуальным, и разрешение этой проблемы весьма важно для практической физиотерапии [5—7].

Известно, что методом электрофореза в организм вводится от 10 до 20% лекарственного вещества и это объясняется недостаточной проницаемостью кожи для лекарственных веществ и задержкой значительной части (до 80%) в гидрофильных прокладках.

Для увеличения количества вводимого вещества предлагалось применение растворов высокой концентрации, большой силы (плотности) тока и т. д. Изучая значение концентрации рабочего раствора для лекарственного электрофореза, В. С. Улащик и В. А. Бандарин [8] установили, что применение высококонцентрированных растворов ведет к неоправданному расходу лекарственных препаратов. В физиотерапии для электрофореза рационально использование небольших концентраций лекарственных веществ, так как при этом из раствора вводится относительно наибольшая доля растворенного вещества. Увеличение же силы тока выше терапевтической плотности 0,1 *ма/см*^{2} может повлечь за собой чрезмерное раздражение кожи вплоть до точечных ожогов.

Одним из доступных и простых путей повышения проницаемости кожи и увеличения количества вводимого вещества, на наш взгляд, является использование нетоксичных растворителей. Нами применен неводный (диссоциирующий) биполярный растворитель — диметилсульфоксид (димексид, ДМСО), синтезированный на кафедре фармацевтической химии Львовского медицинского института профессором Н. М. Туркевичем и разрешенный к применению в лечебной практике Фармкомитетом Министерства здравоохранения СССР.

Диметилсульфоксид — практически нетоксичный препарат, обладающий большой способностью проникать (пенетрация) через неповрежденную кожу и транспортировать растворенные в нем вещества, не изменяя их фармакологического действия. ДМСО повышает проницаемость биологических мембран по отношению к другим лекарственным веществам [9—11].

Многочисленными работами с применением радиоактивных изотопов установлено, что ДМСО увеличивает скорость проникновения йода-131 через неповрежденную кожу и способствует стойкому депонированию препарата в глубоких слоях кожи [12, 13].

Цель настоящей работы — изучение влияния диметилсульфоксида на ионофоретическую проницаемость кожи и на количество вводимого гальваническим током радиоактивного йода. В медицинской практике с диагностической целью, в том числе и для изучения проницаемости кожи, наиболее широко применяется йод-131 [14, 15]. Всего нами проведено 22 исследования на здоровых людях-добровольцах (11 человек) в возрасте 20—30 лет, которые были разделены на две группы.

В первой группе, контрольной (10 исследований, 5 человек), исследуемые получали обычный электрофорез йода-131, а во второй группе, основной (12 исследований, 6 человек), применялся электрофорез йода-131 из 50%-ного водного раствора диметилсульфоксида — «суперэлектрофорез».

Методика исследования. Условия опытов во всех исследованиях были одинаковыми. Для введения радиоактивного йода мы

пользовались гальваническим аппаратом АГН-32. Электроды с гидрофильными прокладками площадью 50 *см*^{2} располагались на предплечье: активный электрод, соединенный с отрицательным полюсом (катод) — на внутренней поверхности, а индифферентный (анод) — на противоположной стороне. Сила гальванического тока 5 *ма*, что соответствует терапевтической плотности 0,1 *ма*/*см*^{2} прокладки. Продолжительность воздействия 10 *мин*.

Радиоактивную метку активностью 3—5 *мккюри*, разведенную в 3 *мл* физиологического раствора (контроль) и в 3 *мл* 50%-ного водного раствора диметилсульфоксида (опыт), наносили на кожу внутренней поверхности предплечья на площади электродной прокладки.

Определение количественных показателей радиоиндикатора проводили поэтапно в одинаковые временные интервалы с помощью коллимированного сцинтилляционного детектора на аппарате ДСУ-61: непосредственно после нанесения препарата на кожу, в гидрофильных прокладках после завершения процедуры и на коже после удаления прокладки. Общее количество нанесенного на кожу радиоактивного изотопа принимали за 100%.

Результаты наших исследований показали, что при одинаковых физико-технических условиях в течение 10-минутной процедуры обычного электрофореза (контроль) в прокладке электрода задерживается 77±5% изотопа, а при «суперэлектрофорезе» (опыт) — 32±5%, т. е. в 2,4 раза меньше по сравнению с контролем.

Регистрация излучения на коже под электродом после удаления прокладки показала, что в контроле количество изотопа на коже составляло 17±5%, а в опыте 34±5%, т. е. в 2 раза больше по сравнению с обычным элктрофорезом. Увеличение количества вводимого гальваническим током вещества (йод-131) из среды диметилсульфоксида можно объяснить физико-химическими и биологическими свойствами ДМСО.

Диметилсульфоксид в значительной степени диссоциирует вводимое вещество вплоть до концентрации 10^{-3} М и является прекрасным сольватирующим растворителем для катионов. Последние способны присоединяться по схеме

$$(HC_3)_2S^+ — O^- + X^+ \rightarrow (CH_3)_2 S^+ — OX^-.$$

При контакте диметилсульфоксида с кожей за счет растворения липоидов и жиров эпидермиса снижается электрическое сопротивление кожи и повышается ее ионофоретическая проницаемость.

Таким образом, проведенные нами исследования показывают определенные преимущества электрофореза из среды диметилсульфоксида — «суперэлектрофореза» — по сравнению с обычным электрофорезом, а полученные данные совпадают с результатами предыдущих исследований на токопроводящих моделях,

животных и людях с красителями и рядом лекарственных веществ с помощью метода спектрофотометрии на регистрирующем спектрофотометре Perken — Elmer (Англия).

ЛИТЕРАТУРА

1. И. А. Абрикосов, Н. А. Каплун. Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК, 1955, № 1, 61.
2. Н. П. Крылов. Там же, 1958, № 2, 139.
3. Л. А. Скурихина. Там же, 1960, № 4, 346.
4. В. П. Варварин. Там же, 1961, № 5, 443.
5. И. Ипсер. Там же, 1958, № 5, 399.
6. И. А. Абрикосов, Е. А. Захарова, Н. А. Каплун, Е. Б. Марковников, А. Н. Обросов, Н. К. Позднеева, Н. В. Пучков. Там же, № 5, 390.
7. В. С. Улащик. Электрофорез лекарственных веществ. Материалы I Всесоюзного симпозиума. Минск, 1972, 47.
8. В. С. Улащик, В. А. Бандарин. Здравоохранение Белоруссии, 1968, № 7, 52.
9. В. А. Рахманов, И. С. Ажгихин. Труды Первого Моск. мед. ин-та, 1968, № 58, 17.
10. А. С. Закс, Б. М. Дацковский, Л. С. Митрюковский. Фармакология и токсикология, 1971, **34**, № 5, 632.
11. Б. М. Дацковский, А. С. Закс, Л. С. Митрюковский. Вестн. дерматологии и венерологии, 1973, № 1, 30.
12. Л. С. Митрюковский. Автореф. канд. дисс. Воронеж, 1971.
13. В. Д. Тарасенко, А. С. Барыбин. Тезисы докладов 2 зональной конференции по применению изотопов в народном хозяйстве Урала. Свердловск, 1971, 80.
14. Ю. А. Кушнер. Вестн. дерматологии и венерологии, 1961, № 9, 11.
15. Н. Е. Сизых, В. Д. Неробеев. Сов. медицина, 1963, № 2, 131.

■

СОДЕРЖАНИЕ

В. В. Купцова, Н. В. Микшевич, Ю. В. Егоров, Д. И. Семенов. Определение сравнительной устойчивости комплексов иттрия-91 с белками 3

В. В. Купцова, Н. В. Микшевич. Изучение адсорбции микроколичеств иттрия-91 на нитроцеллюлозе 8

Н. В. Микшевич. Изучение связывания иттрия-91 сывороточными белками в опытах in vitro методом гель-хроматографии 12

В. В. Купцова. Изучение комплексообразования иттрия-91 с гепарином методом ионного обмена 16

Н. М. Любашевский, В. И. Старичeнко. Авторадиографическая оценка сравнительной роли некоторых физико-химических факторов в накоплении остеотропных радиоизотопов скелетом 18

Е. И. Сухачева, С. С. Лекохмахер, Н. М. Любашевский. Оценка вклада крови и некоторых тканей в распад хелатных комплексов иттрия-91 в организме 28

А. В. Баженов. Оценка роли печени в распаде комплексов Y^{91}-ЭДТА и Y^{91}-НТА 43

С. С. Лекохмахер. Выяснение конкурентной роли цинка в распаде хелатных соединений металлов в животном организме 46

В. С. Безель, Б. В. Попов. Математическое моделирование действия комплексона на метаболизм эндогенного цинка . . 52

В. С. Безель, Е. В. Андреева, М. Н. Белова. Изменение электролитного состава мочи и крови животных как возможный механизм токсичности комплексонов 62

Л. А. Субботин, Г. А. Меньшикова, А. В. Баженов. Влияние комплексона на поведение смеси радиоактивных изотопов марганца-54, железа-59, цинка-65 и иттрия-91 в организме 67

И. П. Трегубенко, Г. А. Меньшикова, Д. И. Семенов. Определение содержания стронция-90 в организме по величине выведения комплексоном ДТПА дочернего иттрия-90 . 72

А. В. Баженов. Обмен радиоиттрия в перфузируемой печени крыс 78

Е. И. Сухачева, И. П. Трегубенко, Д. И. Семенов. Влияние весовой дозы носителя на поведение радиоактивных металлов в организме 82

Б. В. Попов. Определение параметров многокамерных моделей . 99

Б. В. Попов, В. С. Безель. Математическая модель обмена цинка в животном организме 109

Е. И. Сухачева. Поведение радиоактивной меди в организме крыс при внутривенном введении 119

Н. М. Любашевский, М. К. Окунева. Исследование участия эндокринного аппарата кальциевого обмена в метаболизме инкорпорированного иттрия-91 125

Я. Б. Козин, В. Д. Тарасенко, И. В. Чусовитина. Простой способ реализации спектрометрии гамма-излучения человека в повседневной практике 145

В. Д. Тарасенко, Я. Б. Козин, А. И. Мезенцев, И. В. Чусовитина. Особенности распределения инкорпорированного йода-131 в норме и при тиреотоксикозе 149

А. И. Мезенцев, Я. М. Соскин, В. А. Палкин. Об участии глиальных клеток в процессе репаративной регенерации в головном мозгу (авторадиографическое исследование) . . . 154

Р. Н. Биктимиров, В. Р. Лукашов, В. М. Грушков, А. И. Мезенцев, А. С. Барыбин, И. Е. Оранский. Применение радиоактивного йода при изучении количественных сторон электрофореза из среды неводных растворителей — «суперэлектрофорез» 156

УДК 541:546.641/611.018.5

Определение сравнительной устойчивости комплексов иттрия-91 с белками. Купцова В. В., Микшевич Н. В., Егоров Ю. В., Семенов Д. И. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Методом ионного обмена с использованием катионита КУ-2 в Na^+-форме определены коэффициенты распределения иттрия-91 между смолой и растворами белков (альбумин, гемоглобин, трипсин, пепсин) в 0,15 М NaCl в области нейтральных pH. Отмечено уменьшение коэффициентов распределения микрокомпонента с увеличением концентрации белка, что свидетельствует о наличии в системе процесса образования комплексов. Формальным расчетом по методу Шуберта определены константы нестойкости образующихся комплексов и написан ряд устойчивости микрокомпонента с исследованными белками: альбумин > гемоглобин = трипсин = пепсин.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 541.183:546.641

Изучение адсорбции микроколичеств иттрия-91 на нитроцеллюлозе. Купцова В. В., Микшевич Н. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Изучена адсорбция иттрия-91 без носителя на стенках пробирок из нитроцеллюлозы. Сорбцию проводили из растворов 0,15 М NaCl, содержащих и не содержащих сывороточный альбумин. Отмечен сложный характер зависимости сорбции из 0,15 М растворов NaCl от pH и значительная (60—80%) сорбция микрокомпонента из нейтральных растворов. В области pH ~ 7 распределение иттрия-91 линейно. Увеличение концентрации электролита (NaCl) незначительно снижало сорбцию. Присутствие в растворе альбумина при всех значениях pH приводило к практическому подавлению сорбции, что свидетельствует об участии этого биолиганда в образовании комплекса с иттрием-91, не сорбирующегося на поверхности нитроцеллюлозы.

Иллюстраций 5. Библиогр. 7 назв.

УДК 541:546.643/611.018.5

Изучение связывания иттрия-91 сывороточными белками в опытах in vitro методом гель-хроматографии. Микшевич Н. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Исследовано связывание иттрия-91 без носителя белками сыворотки крови. Показано, что в изученных условиях (колонка 1,2×50 с сефадексом G-100) доля микрокомпонента, связанного протеинами, не зависит от его концентрации и составляет в среднем 5%. Обсуждаются причины низкого сродства иттрия-91 к белкам, определенного в эксперименте, и природа пиков, проявляющихся на элюционной диаграмме при вымывании радионуклида. Отмечена трудность идентификации второго (выходящего в полном объеме колонки) и третьего (проявляющегося при использовании трилона Б) пиков.

Иллюстраций 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 541.546.641

Изучение комплексообразования иттрия-91 с гепарином методом ионного обмена. Купцова В. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Методом ионного обмена с использованием смолы КУ-2 в Na-форме показано, что при нейтральных pH изменение концентрации гепарина от 100 до 4000 ед./10 *мл* не влияет на коэффициент распределения невесомого иттрия-91 между смолой и раствором, что свидетельствует об отсутствии эффекта комплексообразования в системе.

Библиогр. 2 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Авторадиографическая оценка сравнительной роли некоторых физико-химических факторов в накоплении остеотропных радиоизотопов скелетом. Любашевский Н. М., Стариченко В. И. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Методом сравнительной авторадиографии радионуклидов, введенных in vivo и in vitro, изучены некоторые физико-химические механизмы кумулирования остеотропных продуктов в скелете. Ведущую роль в накоплении радиоактивных веществ играет доставка кровотоком. Показано, что повышенная плотность рисунка аутограммы в области зоны роста зависит от повышенного кровоснабжения, умеренно увеличенной сорбционной способности поверхностных структур обызвествляющегося края эпифизарно-хрящевой пластинки и молодых трабекул, от большой протяженности сорбирующих поверхностей при малом размере ячей в этой зоне. Разработана классификация нативных поверхностей скелета, учитывающая кровоснабжение и структурно-тканевые особенности.

Иллюстраций 3. Библиогр. 16 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Оценка вклада крови и некоторых тканей в распад хелатных комплексов иттрия-91 в организме. Сухачева Е. И., Лекохмахер С. С., Любашевский Н. М. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В опытах на целостном организме крыс и модельных системах изучали роль крови, ее компонентов и некоторых тканей в распаде комплексов иттрия. Комплекс Y^{91}-НТА с $K_{уст}$ $10^{11,4}$ практически полностью распадается в крови, в основном в результате конкуренции белков плазмы за металл, распределение его происходит по типу «весомого» иттрия, с преимущественным накоплением в органах ретикулоэндотелиальной системы.

Иной механизм распада выявлен для высокоустойчивых комплексов. В этом процессе участвуют все исследованные ткани (кровь, печень, почки, скелет, мышцы, селезенка). Вклад их в расщепление хелатных соединений определяется аффинитетом и спецификой обмена внутренней среды с циркулирующей кровью, зависящей главным образом от скорости кровотока и объема межтканевого пространства.

Таблиц 3. Иллюстраций 8. Библиогр. 20 назв.

УДК 621.014.461+612.015.31:621.039.85:621.35:616.36

Оценка роли печени в распаде комплексов Y^{91}-ЭДТА и Y^{91}-НТА. Баженов А. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В опытах на изолированной перфузируемой печени крыс показано, что в переживающей печени происходит распад комплексов Y-ЭДТА и Y-НТА, введенных в перфузионную среду с 10%-ным избытком комплексона.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Выяснение конкурентной роли цинка в распаде хелатных соединений металлов в животном организме. Лекохмахер С. С. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В статье дается оценка роли цинка в распаде хелатных металлокомплексов в организме. Показано, что изменения в выведении радиоактивного цинка, наблюдаемые после инъекции комплексов иттрия и свинца, не связаны с непосредственным вытеснением цинком закомплексованного металла из комплекса.

Таблиц 2. Иллюстраций 3. Библиогр. 5 назв.

УДК 612.015.3:51.001.57:621.039.85:691.471.3

Математическое моделирование действия комплексона на метаболизм эндогенного цинка. Безель В. С., Попов Б. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В статье сделана попытка методами математического моделирования выяснить взаимодействие комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА с эндогенным цинком животного организма. На основании имеющихся литературных данных по количеству выводимого из организма крыс цинка в результате инъекций различных доз комплексона рассмотрено уравнение комплексования цинка в жидкостях организма.

Специальные режимы введения комплексонов Са-ЭДТА и Са-ДТПА, вызывающие различный токсический эффект, рассмотрены в модельном эксперименте для определения снижения уровня цинка в различных системах организма. Обсуждаются возможные механизмы токсичности комплексонных инъекций. На основании модельных расчетов показано, что токсичность комплексонов нельзя однозначно объяснить только снижением уровня цинка в организме. Несмотря на это, наличие корреляции между степенью токсичности комплексонных инъекций и уровнем цинка в некоторых органах животных позволяет говорить о возможности расчетов оптимальной тактики комплексонной терапии.

Обсуждается возможность избирательного снижения уровня цинка в поджелудочной железе в результате применения специального режима введения комплексона.

Иллюстраций 10. Библиогр. 11 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Изменение электролитного состава мочи и крови животных как возможный механизм токсичности комплексонов. Безель В. С., Андреева Е. В., Белова М. Н. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В результате трехкратной инъекции кальциевой формы комплексона ЭДТА (общая доза 600 *мкгмолей* на животное) в

течение 6 *ч* содержание хлора и натрия в моче лабораторных крыс уменьшается соответственно в 2—4 раза по сравнению с контрольными животными, получавшими эквимолярные по натрию количества NaCl или Na-цитрата. Аналогичная картина наблюдается после предварительного (за 1 *ч*) введения радиоактивных изотопов натрия-22, хлора-36, брома-82 и йода-131. Сдвиги в уровнях экскреции не приводят к статистически значимому изменению этих элементов в крови животных. Исключение составляет йод-131, содержание которого в крови возрастает вдвое. Вместе с тем наблюдалось увеличение радиоактивности щитовидной железы. Описанные явления сопровождаются резким снижением pH мочи опытных животных (от 6,39 до 4,67).

Изменения электролитного состава мочи животных выражают компенсаторную реакцию со стороны почек на быструю экскрецию из организма хелатных анионов и могут явиться причиной наблюдаемых в хроническом эксперименте морфологических изменений в почках.

Таблиц 3. Библиогр. 7 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85

Влияние комплексона на поведение смеси радиоактивных изотопов марганца-54, железа-59, цинка-65 и иттрия-91 в организме. Субботин Л. А., Меньшикова Г. А., Баженов А. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Изучали влияние Са-ЭДТА, инъецированного внутривенно крысам через 3 *мин* после инкорпорации смеси радиоизотопов Y^{91}, Mn^{54}, Fe^{59} и Zn^{65}. Радиоактивность выделений и тканей измеряли на амплитудном анализаторе АИ-128 и на торцевом счетчике. Показано, что выделение Y^{91} и Zn^{65} в течение первых 6 *ч* через почки заметно повышалось, а Fe^{59} и Mn^{54} — незначительно. Полученные результаты подтверждают имеющиеся в литературе данные о значительной потере организмом цинка при применении комплексонов. Отмечены также изменения в распределении физиологически важных катионов (железа и марганца) под влиянием инъекции ЭДТА.

Иллюстраций 3. Библиогр. 3 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Определение содержания стронция-90 в организме по величине выведения комплексоном ДТПА дочернего иттрия-90. Трегубенко И. П., Меньшикова Г. А., Семенов Д. И. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Предлагается метод количественного определения содержания в организме стронция-90 по выведению его дочернего продукта иттрия-90 под влиянием комплексона ДТПА. Преимущество предлагаемого метода перед другими, ранее предложенными,— его высокая чувствительность.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 6 назв.

УДК 612.014.461+612.015.31:621.039.85:612.35:616.36

Обмен радиоиттрия в перфузируемой печени крыс. Баженов А. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

На изолированной перфузируемой печени крыс показано, что скорость накопления иттрия в печени зависит от физико-химиче-

ского состояния поступающего металла из перфузионной жидкости, а двухфазный характер кривых, по-видимому, свидетельствует о разной микролокализации металла в печени.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Влияние весовой дозы носителя на поведение радиоактивных металлов в организме. Сухачева Е. И., Трегубенко И. П., Семенов Д. И. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Методом меченых атомов изучено поведение в животном организме инъецированных внутривенно иттрия, железа, хрома и цинка в разных дозировках, а также влияние неизотопных носителей (хрома, железа, цинка и циркония) на поведение невесомого Y^{91}. Определены пороговые концентрации изотопных и неизотопных носителей, ведущие к изменению судьбы излучателей в организме, рассмотрены возможные причины различных эффектов носителей.

Таблиц 7. Иллюстраций 5. Библиогр. 28 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Определение параметров многокамерных моделей. Попов Б. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Рассмотрены методические вопросы анализа камерных моделей метаболизма радиоактивных и стабильных элементов в животном организме. Обсуждается возможность определения коммуникационных констант для мамиллярной модели с числом камер, превышающим 3—4.

Отмечено, что последовательное применение метода случайного поиска с направляющим конусом для определения оптимальной комбинации коэффициентов и дальнейшее использование метода последовательных приближений Гаусса — Ньютона для оценки дисперсий к ним может служить универсальным алгоритмом для определения параметров камерной модели.

Иллюстраций 4. Библиогр. 20 назв.

УДК 612.015.3:51.001.57:621.039.85:591.471.3

Математическая модель обмена цинка в животном организме. Попов Б. В., Безель В. С. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Предложена математическая модель обмена цинка в организме лабораторных крыс. Выделение таких наиболее существенных, с точки зрения метаболизма цинка, органов и тканей, как печень, скелет, почки, поджелудочная железа, слизистая кишечника и другие, в систему взаимосвязанных камер позволило определить основные кинетические характеристики модели обмена цинка. В основу модели были положены литературные данные по поведению в организме крыс радиоактивного цинка после внутривенного введения. Обсуждается адекватность модели для других путей поступления (пероральное). Показано, что «стационарные» фонды, полученные на основании модельных расчетов, удовлетворительно соответствуют содержанию в органах животных стабильного цинка. Делается заключение о применимости предлагаемой модели для описания процессов обмена эндогенного цинка.

Рассчитаны режимы цинкдефицитной диеты животных. Результаты модельного прогноза сравниваются с литературными данными.

Иллюстраций 8. Библиогр. 25 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Поведение радиоактивной меди в организме крыс при внутривенном введении. Сухачева Е. И. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Самкам белых крыс вводили внутривенно $Cu^{64}Cl_2$ (0,32 *мг* на животное). Изучали динамику распределения в сроки до 24 *ч*, установлен двухфазный характер этого процесса. В сроки до 4 *ч* резко падает общая радиоактивность крови, тушки, скелета и легких с последующим быстрым возрастанием накопления в печени и желудочно-кишечном тракте. С 4 до 24 *ч* уровень отложения меди-64 во всех тканях изменяется незначительно. Выбывание меди-64 из крови, плазмы и эритроцитов удовлетворительно описывается двухэкспоненциальным уравнением. Основная доля активности крови (87%) связывается плазмой. Отмечены некоторые отличия в характере распределения хлорида меди у самок по сравнению с ацетатом меди у самцов крыс.

Таблиц 2. Иллюстраций 2. Библиогр. 5 назв.

УДК 612.015.3:621.039.85:591.471.3

Исследование участия эндокринного аппарата кальциевого обмена в метаболизме инкорпорированного иттрия-91. Любашевский Н. М., Окунева М. К. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Методом экстирпации эндокринных желез, участвующих в обмене кальция и скелета позвоночных (щитовидной, паращитовидных и слюнных), а также воздействием паратиреоидином и натриевой и кальциевой формами ЭДТА показано, что иттрий-91, длительно депонированный в костной ткани, может подвергаться определенному воздействию эндокринной системы. Показано, в частности, что у тирео-паратирео-сиаладенэктомированных животных уменьшается выведение радиоиттрия; паратиреоидин увеличивает экскрецию иттрия-91 у этих животных до уровня контроля. Паратиреоидин также увеличивает выведение излучателя у здоровых животных и усиливает выведение с помощью ЭДТА, Na_2-ЭДТА эффективнее Са-ЭДТА, особенно при многократных инъекциях, так как вследствие кальципривного эффекта стимулирует через паращитовидные железы разорбцию скелета.

Таблиц 5. Иллюстраций 1. Библиогр. 12 назв.

УДК 616.008.927.9:073.916

Простой способ реализации спектрометрии гамма-излучения человека в повседневной практике. Козин Я. Б., Тарасенко В. Д., Чусовитина И. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Решением вариационной задачи минимизации функционала погрешности гамма-спектрометрии излучения человека получены ее оптимальные параметры. Описывается соответствующий спектрометр, реализованный из типовых спектрометрических блоков и обеспечивающий требуемую практикой точность спектрометрии инкорпорированного излучателя.

Иллюстраций 3. Библиогр. 3 назв.

УДК 616:073.916

Особенности распределения инкорпорированного йода-131 в норме и при тиреотоксикозе. Тарасенко В. Д., Козин Я. Б., Мезенцев А. И., Чусовитина И. В. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

В результате использования спектрометрии гамма-излучения человека и гамма-спектрометрии образцов крови и ее дериватов получены количественные характеристики метаболизма йода-131 на уровне щитовидной железы, крови и периферических тканей в норме и при тиреотоксикозе. Выявлена диагностическая значимость отдельных радиодиагностических тестов.

Таблиц 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 591.481.1/615.849.5

Об участии глиальных клеток в процессе репаративной регенерации в головном мозге (авторадиографическое исследование). Мезенцев А. И., Соскин Я. М., Палкин В. А. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

Проведено авторадиографическое исследование с применением H^3-тимидина для изучения заживления ран головного мозга у крыс в эксперименте при общем облучении дозой 600 *р*. Отмечена радиоактивная метка в ядрах перинейрональной микроглии. Получены данные, указывающие на миграционные свойства этого вида глии и участие ее в формировании рубца.

Библиогр. 8 назв.

УДК 615.849—537.363.

Применение радиоактивного йода при изучении количественных сторон электрофореза из среды неводных растворителей — «суперэлектрофорез». Биктимиров Р. Н., Лукашов В. Р., Грушков В. М., Мезенцев А. И., Барыбин А. С., Оранский И. Е. «Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов». Свердловск, 1976.

С помощью радиоиндикации изучены количественные характеристики введения йода-131 обычным электрофорезом и из среды диметилсульфоксида. Установлено, что добавление диметилсульфоксида в 2 раза увеличивает количество форетируемого изотопа и в 2—3 раза уменьшает потери изотопа в электродных прокладках.

Библиогр. 15 назв.

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ

Труды Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР, вып. 103

Утверждено к печати Редакционно-издательским советом Уральского научного центра АН СССР

Редактор **В. Е. Каюкова**
Обложка художника **М. Н. Гарипова**
Техн. редактор **Н. Р. Рабинович**
Корректор **Л. А. Урядова**

РИСО УНЦ № 723—20(76). Сдано в набор 22/XII 1975 г. Подписано к печати 3/VIII 1976 г. НС-14112. Формат 60×90¹/₁₆. Усл.-печ. л. 10,5. Уч.-изд. л. 10,6. Бумага типографская № 2. Тираж 700. Заказ 727. Цена 1 р. 06 к.

РИСО УНЦ АН СССР, Свердловск, ГСП-169, Первомайская, 91

Типография изд-ва «Уральский рабочий», Свердловск, пр. Ленина, 49.