ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК, N6, 2001, стр. 17-21

А.Ф.Цыб, Р.А.Розиев, А.Я.Гончарова, А.Н.Григорьев, В.Г.Скворцов, Л.Л.Бозаджиев, В.К.Подгородниченко, О.В.Томчани

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПРИГОДНОСТЬ ЙОДКАЗЕИНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЙОДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Медицинский радиологический научный центр РАМН (директор – академик РАМН А.Ф.Цыб), НПП "МЕДБИОФАРМ" (директор - к.м.н. Р.А.Розиев), Обнинск

Не менее полутора миллиардов населения земного шара, более 100 миллионов россиян проживают на территории с недостаточностью йода. Совместными программами UNICEF, ICCIDD и ВОЗ предпринимаются шаги по ликвидации йодной недостаточности [1]. В настоящее время наиболее распространенной является программа йодирования соли. Наряду с положительными результатами в профилактике йодной недостаточности с помощью йодированной соли появились и негативные проявления в виде йодиндуцированных заболеваний (ЙИЗ), связанных с повышенным поступлением йода в щитовидную железу [7, 11]. В документах Совещания по обеспечению гарантии качества программ йодирования соли (октябрь 1996 г.), указывается, что из-за несовершенства существующей технологии сложно добиться равномерности перемешивания калия йодида (йодата) в поваренной соли. Содержание калия йодида (йодата) варьировало в соли от 0 до 600 мг на 1 кг, по усредненным данным от 24 до 148 мг на 1 кг [3]. Увеличение числа случаев гипертиреоза, а также выявление других медицинских осложнений, совпадающих с внедрением йодной профилактики среди населения йоддефицитных территорий различных стран мира, обусловили необходимость проведения международного симпозиума в марте 1996 г. в Бруклайне, США) [6, 10].

Возможность профилактики йодной недостаточности с помощью йодорганических соединений была известна еще в конце девятнадцатого века. Схожесть между физиологическим действием йодированных белков и гормонов щитовидной железы впервые была показана Wormser в 1897 году в экспериментах по лечению йодированным казеином собак с удаленной щитовидной железой и больных с микседемой. В период с тридцатых по шестидесятые годы двадцатого столетия были проведены фундаментальные исследования по изучению метаболизма йодорганических соединений, включая йодтирозины и тироксин. В 1943 году исследователи Reineke и Turner опубликовали данные об усовершенствованной технологии синтеза йодказеина, его высокой тиреоидной активности и влиянии на различные продуктивные процессы у домашних животных [10]. Еще в 1936 году Abelin отметил, что при щелочном гидролизе искусственно йодированного казеина образуются продукты, которые имитируют действие тиреоидных гормонов [7]. В 1956 году американский физиолог L.Van Middlesworth сообщил, что кормление крыс казеином, содержащим небольшое количество йода (20-50 мкг/кг), предупреждало появление у них зоба [12]. В дальнейшем, о способности казеина предотвращать появление зоба у мышей, находившихся на йоддефицитной диете, доложили Leblond и Axelrad [12]. Эти и многие другие работы по изучению метаболизма искусственно йодированных белков, сравнительному анализу биологического действия природных и искусственных йодопротеинов обусловили наш выбор йодказеина, как средства для профилактики йодной недостаточности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Йодказеин (белок молока – казеин, йодированный по аминокислотным остаткам) - порошок желтого цвета, растворимый в воде, массовое содержание йода в котором составляет 7-9%. Функциональная пригодность препарата "Йодказеин" (производства НПП "МЕДБИОФАРМ") была изучена с помощью радиометрических методов исследования "ин виво" и "ин витро".

Испытания были проведены на 170 белых беспородных крысах обоего пола, весом 160-200 г. Животные были разделены на две группы. Первая группа крыс находилась на рационе, дефицитном по содержанию йода. Второй группе животных ежедневно в течение недели добавляли в рацион водный раствор йодказеина, содержавший до 5 мкг йода, что соответствует физиологической норме потребления йода.

Для биологических испытаний использовали хроматографически чистый йодказеин, меченный ^{131}I, активностью 370 кБк. Радиоактивную метку в казеин вводили по следующей схеме. Раствор радиоактивного йодида натрия объёмом 0,2 мл и общей активностью 110 МБк (3 мКи) помещали в стеклянную пробирку и выпаривали досуха. Затем в эту же пробирку добавляли 0,1 мл 1 N раствора монохлорида йода в 6 N соляной кислоте, полученного по методу Вейгана-Хильгетага [4]. Содержимое пробирки тщательно перемешивали и инкубировали в течение 20 минут. После чего туда же добавляли 1 мл 10% раствора казеина в карбонатном буферном растворе (pH 10,2). Выпавший осадок йодказеина переводили в растворимую форму за счет повышения pH в реакционной смеси до величины 8,0, после чего эту смесь разделяли хроматографически на колонке 1,6x30 см, заполненной сефадексом G-25. В качестве элюента использовали карбонатный буферный раствор. Детектирование проводили при помощи проточного ультрафиолетового датчика и гамма-счетчика. При этом получали ^{131}I-казеин с радиохимической чистотой 99,9% (рис.1). Выход по использованию ^{131}I в процессе метки составил 85%.

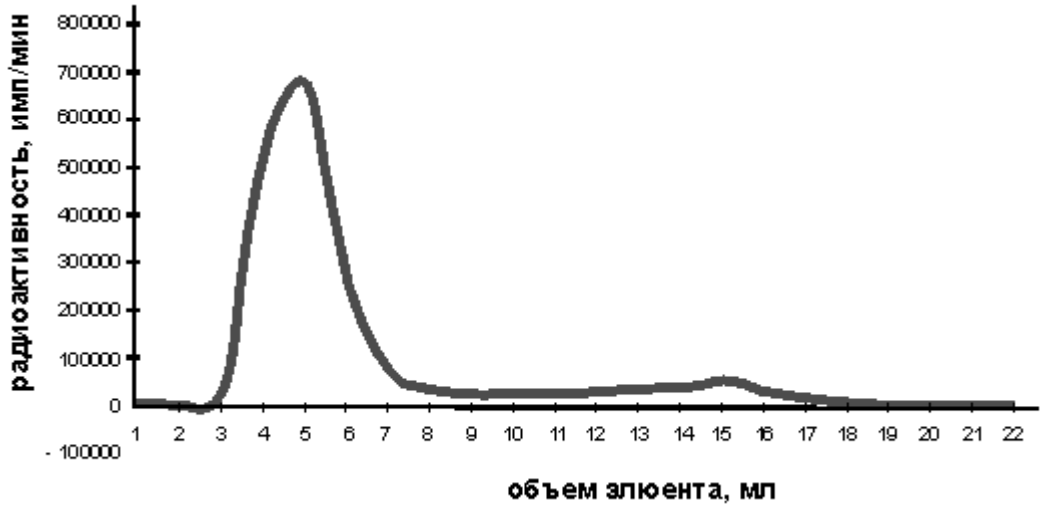

Рис 1. Хроматограмма ^{131}I-казеина

В качестве источника соли неорганического йода в эксперименте использовали Na^{131}I активностью 370 кБк на животное, который по поведению йода идентичен йодиду калия [2].

Для изучения фармакокинетики меченых препаратов использовали автоматический гамма-счетчик GAMMA-550 фирмы BECMAN (США) и сцинтилляционную гамма-камеру MB-9200 фирмы GAMMA (Венгрия). Радиоактивные препараты вводили с помощью зонда в нижнюю треть пищевода крыс в 0,5 мл физиологического раствора.

Сканирование на гамма-камере проводили через 30 минут, 2, 4, 10 часов, через 1,2,3,4,6 и 8 суток для определения величины накопления и скорости выведения ^{131}I- казеина и Na^{131}I из организма животных. Условия сканирования животных были стандартными в течение всех сроков наблюдения. В качестве фантома использовали полиэтиленовый флакон объемом 100 мл с притертой крышкой, заполненный водой и содержащий ^{131}I активностью 370 кБк. В те же сроки проводили забой животных, извлекали органы, взвешивали и брали кусочки весом до 1 г. Отдельно собирали суточную мочу и кал животных. Радиометрию кусочков тканей и испражнений животных проводили в стандартном режиме на автоматическом гамма-счетчике. Статистическую обработку данных осуществляли по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первая группа экспериментов была поставлена на животных с недостаточным содержанием йода в суточном рационе. Результаты радиометрии органов крыс первой группы в различные сроки после введения ^{131}I-казеина и Na^{131}I приведены в таблицах 1 и 2, соответственно. Из представленных данных видно, что пик накопления йода в щитовидной железе при использовании ^{131}I-казеина приходится на четвертый час (77,2%) и далее идет плавное снижение его содержания до 40% от веденного количества к 24 часам. При введении Na^{131}I максимальное накопление ^{131}I в щитовидной железе происходит уже через 2 часа (64,5%), а затем снижается практически в два раза к 4 часу. Более медленное накопление йода из йодказеина объясняется тем, что до поступления в щитовидную железу происходит гидролиз белка в желудочно-кишечном тракте до аминокислот с последующим освобождением йода под действием дейодиназ печени. Этот процесс обусловливает постепенное поступление йода в кровь по сравнению с йодом из неорганической соли. По-видимому, с этим связано и более высокое накопление йода из йодказеина в щитовидной железе. В большинстве органов, кроме щитовидной железы и печени, содержание йода через 24 часа практически не превышало 1% от введенного количества. Динамика накопления-выведения ^{131}I-казеина и Na^{131}I в щитовидной железе представлена на рисунке 2. Анализ накопления йода в щитовидной железе показывает, что «интегральное содержание» йода в щитовидной железе в течение трех суток после введения йодказеина составляет около 36% от введенного количества и около 24% при введении йодида натрия, то есть в полтора раза больше. Различия статистически значимы (P <0,01).

Таблица 1. Накопление ^{131}I в органах животных с недостаточным содержанием йода в рационе после введении ^{131}I-казеина

Органы и ткани	*Время после введения, ч*							
	0,5	**2**	**4**	**10**	**24**	**48**	**72**	**144**
Кровь	26,2±2,0	7,9±3,1	2,6±0,5	1,3±0,9	0,9±0,5	0,9±0,5	0,6±0,2	0,4±0.1
Легкие	2,7±0,5	0,6±0,3	0,3±0,1	0,3±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1
Сердце	0,8±0,3	0,1±0,1	0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Щитовидная железа	27,2±3,1	72,6±4,1	77,2±2,8	47,5±1,3	40,0±1,0	25,4±3,4	16,0±1,0	4,5±0,5
Печень	17,4±2,0	6,3±1,8	3,3±0,7	2,4±0,3	1,8±0,2	2,7±0,2	2,6±0,2	4,5±0,9
Почки	5,7±1,1	1,4±0,6	1,3±0,4	0,5±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1
Селезенка	1,1±0,2	0,2±0,1	0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Двенадцатиперсная кишка	2,4±1,1	1,3±0,2	0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1

Примечание. Здесь и в табл. 2-4 значения (M ± m) приведены в % от введенной активности.

Таблица 2. Накопление ^{131}I в органах животных с недостаточным содержанием йода в рационе после введении $Na^{131}I$

Органы и ткани	*Время после введения, ч*							
	0,5	**2**	**4**	**10**	**24**	**48**	**72**	**144**
Кровь	29,7±4,1	12,2±1,1	6,3±0,7	0,8±0,3	1,2±0,5	0,9±0,3	0,6±0,1	0,3±0.1
Легкие	4,4±1,1	1,8±0,3	0,3±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1
Сердце	1,6±0,3	0,4±0,1	0,2	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Щитовидная железа	22,5±6,8	64,5±3,4	34,3±2,4	30,7±0,3	27,1±0,5	22,3±1,2	13,1±0,7	3,5±0,5
Печень	22,4±0,3	7,3±1,6	1,9±1,1	0,5±0,2	1,6±0,2	2,4±0,3	2,6±0,2	1,5±0,9
Почки	4,7±1,1	0,9±0,4	0,3±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,1±0,1
Селезенка	1,8±0,7	0,8±0,1	0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Двенадцатиперсная кишка	1,2±0,4	0,2±0,1	0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1

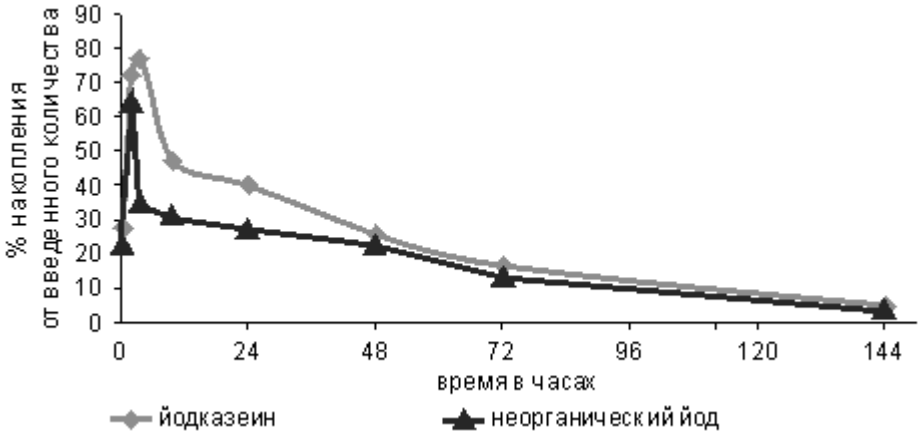

Рис.2 Динамика накопления-выведения препаратов ^{131}I в щитовидной железе животных, находившихся на йоддефицитной диете, при введении ^{131}I-казеина и $Na^{131}I$

Вторая группа экспериментов проведена на крысах, получающих рацион с достаточным содержанием йода. В таблицах 3 и 4 представлены данные накопления препаратов йода в органах этих животных.

Таблица 3. Накопление ^{131}I в органах животных с нормальным содержанием йода в рационе после введении ^{131}I -казеина

Органы и ткани	*Время после введения, ч*								
	0,5	**2**	**4**	**10**	**24**	**48**	**72**	**96**	**192**
Кровь	29,4±2,0	19,2±2,2	5,1±0,4	1,2±0,3	2,6±0,5	1,5±0,3	0,9±0,2	0,3±0,1	0,4±0.1
Щитовидная железа	23,6±3,1	48,8±2,1	66,9±2,7	40,1±1,3	26,7±1,2	19,8±1,1	16,6±1,0	12,6±0,8	3,7±0,5
Печень	23,9±2,0	14,5±1,4	6,7±0,8	1,1±0,4	1,4±0,2	1,4±0,1	1,1±0,2	0,3±0,1	0,3±0,1
Почки	7,2±3,1	3,4±0,6	2,0±0,4	0,1±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Двенадцатиперсная кишка	5,3±1,3	2,7±0,4	0,6±0,2	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1

Таблица 4. Накопление ^{131}I в органах животных с нормальным содержанием йода в рационе после введении Na^{131}I

Органы и ткани	*Время после введения, ч*								
	0,5	**2**	**4**	**10**	**24**	**48**	**72**	**96**	**192**
Кровь	27,2±4,3	16,3±3,1	2,5±0,3	2,5±0,2	2,6±0,4	1,1±0,2	0,3±0,2	0,2±0,1	0,4±0,1
Щитовидная железа	26,7±3,4	63,8±1,2	58,3±2,5	50,6±1,4	47.6±1,8	26,6±2,1	23,1±1,3	11,9±0,6	3,8±0,3
Печень	20,4±2,3	8,8±0,6	5,5±0,3	1,2±0,3	1,2±0,2	0,8±0,1	0,9±0,2	0,6±0,1	0,6±0,1
Почки	1,8±0,4	0,9±0,3	0,3±0,2	0,1±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Двенадцатиперсная кишка	3,3±0,6	0,8±0,3	0,4±0,2	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1

Анализ результатов исследований позволяет отметить, что пик максимального накопления йода из ^{131}I-казеина в щитовидной железе наблюдался к четвертому часу после введения, как и в первой группе животных, но величина была примерно на 10% меньше. Выведение йода из щитовидной железы было таким же плавным. Максимальное накопление йода в щитовидной железе при введении Na^{131}I происходило через 2 часа, как и в первой группе, но выведение йода из щитовидной железы было замедленным. Накопление в других органах не имело существенных отличий по обеим группам. Динамика накопления-выведения йода в щитовидной железе животных второй группы представлена на рисунке 3. Если в первой группе животных после введения Na ^{131} I отмечали быстрое выведение йода из щитовидной железы, то во второй группе оно было замедленным, особенно с 10 по 24 час. Вследствие этого «интегральное содержание» йода в щитовидной железе в течение трех суток у животных с нормальным содержанием йода в рационе после введения ^{131} I- казеина составило около 31%, а после введения Na ^{131}I - 40%. То есть у животных второй группы динамика накопления-выведения была отличной от первой группы.

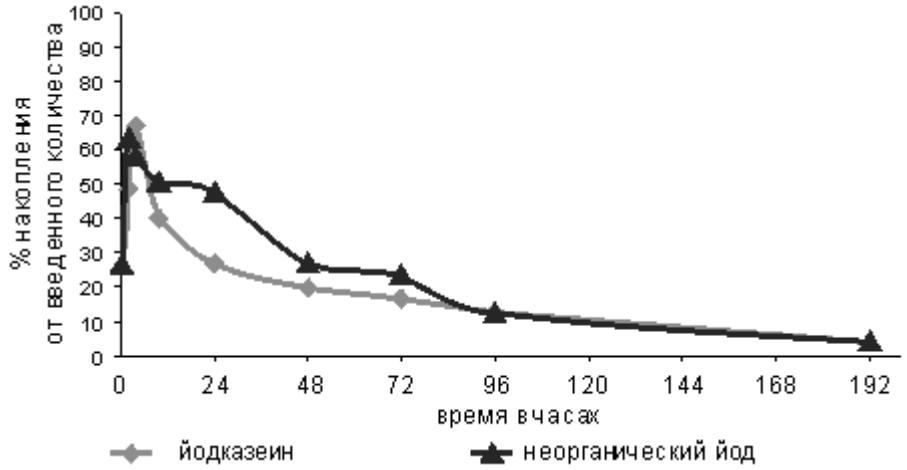

Рис. 3 Динамика накопления-выведения ^{131}I в щитовидной железе животных, находившихся на рационе с нормальным содержанием йода при введении ^{131}I-казеина и $Na^{131}I$

По результатам радиометрии испражнений крыс после введения $Na^{131}I$ установлено, что у животных второй группы с мочой выделялось 90-95% йода, то есть практически столько же, сколько в первой группе.

Кривые «поведения» йода в щитовидной железе при введении 131I-казеина у животных первой и второй групп были сходными и отличались степенью накопления йода (рис.2 и 3). «Интегральное содержание» йода в щитовидной железе к третьим суткам у животных, находившихся на рационе с нормальным содержанием йода, было достоверно меньше ($P<0,05$). Это связано, на наш взгляд, с меньшей потребностью в йоде организма этих животных, а также с регулирующей ролью печени при поступлении его в органической форме. Наши результаты радиометрии испражнений, в которых было обнаружено, что до 60% йода выделялось с мочой, а остальное с калом, подтверждают роль печени в йодном обмене.

Регулирующая роль печени при поступлении йода в органической форме была изучена еще в 40-50-х годах (8,9,10,11,12). Йодированный белок в желудочно-кишечном тракте сначала под действием протеолитических ферментов распадается на аминокислоты, в том числе и йодтирозины. Затем йодированные аминокислоты поступают в печень, где и происходит освобождение йода. Дейодирование в печени осуществляется дейодиназами, находящимися внутри клеток и фиксированными на мембранах эндоплазматического ретикулума, митохондриях и микросомах. Ограниченное дейодирование йодказеина может иметь место после его гидролиза в желудочно-кишечном тракте, на щеточной кайме и внутри эпителиоцитов. Однако данный процесс не имеет физиологической значимости (8). Активность дейодиназ печени зависит от степени йодной недостаточности. Излишняя часть йодированных аминокислот при участии трансфераз печени превращается в глюкурониды и через желчные пути поступает обратно в кишечник (6). Известно, что йод из организма в виде йодида выводится, в основном, с мочой. В то же время, выведение йодорганических форм, тироксина и его метаболитов происходит через желчные пути. Именно поэтому Asimov и Zawadowsky назвали печень и почки "конечными йодными фильтрами".

Полученные в данной работе результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. При введении йодказеина в условиях йодного дефицита щитовидная железа поглощает йод в большем количестве, чем при введении в виде неорганической соли.
2. Пик накопления йода при введении йодказеина наблюдается через 4 часа, а при введении неорганической соли йода через 2 часа. Выведение йода, поступающего в виде йодказеина в условиях йодного дефицита, происходит более медленно.
3. Динамика накопления-выведения йода в щитовидной железе при введении йодказеина у животных, находившихся на йоддефицитной диете, и с нормальным содержанием йода в рационе была сходной, отличаясь большей степенью накопления при дефиците йода.
4. Задержка йода в щитовидной железе при введении его в виде неорганической соли у животных с нормальным содержанием йода в рационе была существенно больше, чем у животных, находившихся на йоддефицитной диете.
5. Результаты исследований по выведению йода из организма при поступлении его в связанном с белками (казеином) виде подтверждают представление об участии печени в регулировке йодного обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимов Г.А., Джатдоева Ф.А. Что Вы хотели бы знать о йоддефицитных заболеваниях.- М.: Интерсэн, 1999.- 48с.
2. Некрасов Б.В. Основы общей химии.т.1.- М.: Химия, 1973.- С.171-182.
3. Совещание по обеспечению гарантии качества программ йодирования соли, 1996г., октябрь. Русский перевод под редакцией Г.А.Герасимова. Quality Assurance Workshop for Salt Iodization Programs. OMNI Project /John Snow Inc., 1997.- С.23.
4. Хильгетаг В. Методы эксперимента в органической химии. Перевод с третьего нем. изд. /Под ред. Суворова Н.Н.- М.: Химия, 1968.- 170с.
5. Ф.Б.Штраубе. Биохимия.- Будапешт, 1963.- С.199-222, 387-390.
6. Abelin I. Weitere Erfahrungen uber die Gewinnung schilddrusenahnlich wirkender substazen aus kunstlich jodiertem Eiweiss //Arch f. Exper. Path. u. Pharmakol.- 1936.- V.181.- P.250.
7. Dunn J.T., Semigran M.J., Delange F. Профилактика и лечение индуциро-ванного йодом тиреотоксикоза и его сердечно-сосудистых осложнений //Преодоление последствий дефицита йода: зарубежный опыт: Сборник статей.- Москва: Интерсэн, 1999.- С.67-79.
8. Elmer A.W. Iodine metabolism and thyroid function.- London: Oxford University Press, 1938.
9. Friedberg W., Reineke E.P. Metabolism of Iodinated Casein in the Rat //Am. J. of Physiology.- 1956.- V.185.- P.27-30.
10. Reineke E.P. The thyroxine content of thyroactive iodinated proteins as determined by a radioactive isotope dilution technique //J. of Dairy Science.- 1954.- V.XXXVII.- P.1227-1232.
11. J.B.Stanbery, A.E.Ermans, P.Bourdoux et al. Индуцированный йодом гипертиреоз: распространенность и эпидемиология //Преодоление последствий дефицита йода: зарубежный опыт: Сборник статей.- Москва, Интерсэн, 1999.- С.43-66.
12. Van Middlesworth L. Effect of casein on iodine metabolism //Endocrinology.- 1956.- V.58.- P.109-113.