

УДК: 612-014.3:546.79

**Проблемы и перспективы использования внутримолекулярных изотопных соотношений основных биогенных элементов как нового ресурса диагностики патологий разной этиологии**

Лысенко О. Б., Скульский Н. А., Шатило В. Б., Кошлякова Т. А., Лысенко М. О., Собонович Э. В.

Показано, что фракционирование изотопов химических элементов в химических и биохимических реакциях базируется на двух фундаментальных свойствах ядер — масса и спин, различия в которых могут влиять как на скорость химических реакций, так и на энергетическое состояние реагирующих систем. В ряде случаев наблюдаются отклонения от масс-зависимого линейного изотопного эффекта для большинства нечетных изотопов от водорода до урана. Эти особенности фракционирования могут быть использованы: в живых организмах — для ранней диагностики патологий разной этиологии; в абиогенных природных системах — для разработки новых способов обогащения изотопов тяжелых элементов.

Ключевые слова: изотопные соотношения, изотопная информация, функциональное состояние организма, метаболизм, органогенные элементы

**Problems and prospects of the main biogenic elements intramolecular isotope correlations using as a new resource of different aetiology pathologies diagnostics**

Lysenko O. B., Skulskiy N. A., Shatilo V. B., Koshliakova T. A., Lysenko M. O., Sobotovich E. V.

It is shown that chemical elements isotopes fractioning in chemical and biochemical reactions is based on two fundamental kernel properties — the mass and the spin; differences between them can affect on both chemical reactions speed and reactive systems energy state. In some cases deviations in mass-dependent linear isotopic effect for most of uneven isotopes from hydrogen to uranium are observed. These fractioning peculiarities can be used: in living organisms — for early disease detection of different aetiology pathology; in abiogenous natural systems — for new methods of heavy elements isotopes enrichment development.

Keywords: isotope correlations, isotope information, organism functional condition, metabolism, organogenic elements.

## Введение

Суть любой химической реакции заключается в рождении молекулы и перегруппировке атомных ядер и их электронных оболочек. Длительность этого события ( $10^{-11}$ — $10^{-13}$  с) определяется временем смещения атомов в реакционном комплексе молекул-реагентов, за которое он преобразуется в молекулы-продукты; при этом старые химические связи сменяются новыми. Это время универсально и не зависит от природы химического процесса: оно одинаково и для геохимических процессов, протекающих миллионы лет, и для взрыва, происходящего за доли секунды, и для ферментативного биосинтеза; различие лишь в числе событий в единицу времени.

В настоящее время понятие об изотопах как атомах того или иного химического элемента, ядра которых различаются массовыми числами, дополнилось и различиями в их квантовых характеристиках. Соответственно классические кинетические изотопные эффекты, связанные с массой ядер, дополнились эффектами, которые основаны на различии их магнитных моментов. Возникшее понятие «новая изотопия» расширяет круг реакционной способности молекул, радикалов, ион-радикалов, карбенов с магнитными и немагнитными ядрами. Именно с этими двумя принципиально различающимися свойствами атомов одних и тех же химических элементов связаны все процессы изотопного фракционирования, в том числе внутримолекулярного фракционирования изотопов в живых организмах [2].

## Химический состав живых организмов

Хорошо известно, что все существующие на Земле живые организмы состоят из вполне определенного набора химических элементов, передаваемого в тех же соотношениях из поколения в поколение, т. е. можно сказать, что химический состав любого организма — важный систематический признак. При этом возникают два вопроса [1]:

- Является ли такая передача абсолютно стабильной из поколения в поколение или же она меняется в процессе геохимической эволюции земной поверхности, но со скоростью, мало доступной человеческому восприятию;
- Соответствует ли место химического элемента в таблице Менделеева его роли в живом веществе.

Химический состав современных организмов складывался под воздействием двух процессов: с одной стороны, это эволюция состава атмосферы, гидросферы и литосферы; с другой — это жизненно необходимая для организма концентрация уже имеющихся внутри него соотношений элементов. По словам знаменитого французского физиолога и патофизиолога Клода Бернара, «постоянство внутренней среды — необходимое условие свободной жизни организма». Изучение прошлого организмов, их эволюции и адаптации к меняющейся геохимической среде обитания поможет грамотно ориентироваться в настоящем и решать актуальные проблемы медицины, экологии и сопряженные с ними проблемы.

Перечень химических элементов, которые относят к «жизненно необходимым», варьирует у разных исследователей в довольно широких пределах. Однако, по мнению большинства классиков, в графе «жизненно необходимые» неизменно повторяются 20 элементов. К четырем органогенным элементам относятся также (O, C, H, N) P, S, Na, K, Mg, Ca, Cl, Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Se, Mo, I, Co [8].

Тем не менее, вопрос о том, какие из обнаруженных в живом веществе химических элементов действительно жизненно необходимы, а какие попадают в организм случайно за счет пищи, воды и воздуха (не принося ему при этом значимого ущерба), остается дискуссионным.

Сфера использования человеком созданных природой изотопов широка и разнообразна. Она касается как органического, так и неорганического мира.

Современные исследования доказывают, что изотопы — носители памяти о рождении и преобразовании молекул, а фракционирование изотопов — это химическая история вещества. Службу памяти изотопы реализуют в двух функциях. Во-первых, они участвуют в создании памяти, в ее запасании (через изотопные эффекты в актах рождения и преобразования молекул). Во-вторых, они — наследники и хранители памяти как свидетели химических событий (и нынешних, и древних, происходивших за многие тысячелетия до наших дней). Это давно доказано многочисленными науками о Земле, которые используют изотопные изменения как методы выбора для изучения важных и ранее неразрешимых проблем [2,15].

Можно сказать, что стабильные изотопы могут быть использованы как изотопные индикаторы в двух случаях:

1) использование их в качестве «внешней метки» при поступлении в живой организм в микроколичествах с пищей, водой, воздухом или лекарственными препаратами;

2) при определении соотношений собственных изотопов организма, являющихся внутримолекулярным явлением (так называемая «внутренняя метка»).

Фракционирование изотопов в химических и биохимических реакциях, индуцированное изотопными эффектами, основано на двух фундаментальных свойствах атомных ядер — массе и магнитном моменте. Кинетический (массзависимый) изотопный эффект распределяет изотопные ядра по их массам; магнитный изотопный эффект фракционирует ядра по их магнитным моментам [2].

Химические элементы имеют изотопы четырех типов ядер, в которых соотношение протонов и нейтронов может быть нечетно-нечетным ( $^{15}_7\text{N}$  и др.), нечетно-четным ( $^{14}_7\text{N}$  и др.), четно-нечетным ( $^{13}_6\text{C}$ ,  $^{17}_8\text{O}$  и др.) и четно-четным ( $^{24}_{12}\text{Mg}$ ,  $^{32}_{16}\text{S}$  и др.). Причем, изотопы трех типов ядер (кроме четно-четных) обладают угловыми моментами ядер и электронов (спинами) и магнитными моментами. В последние десятилетия все больше появляется данных в пользу того, что именно эти характеристики могут «учитываться» биологическими системами в процессах метаболизма. В новой изотопии нельзя не учитывать магнетизм ядер, т. к. именно в этом их свойстве хранится новая информация о химических событиях и в первую очередь это очень важно для биохимии [2].

### **Кинетический изотопный эффект**

Кинетический изотопный эффект основан на различии скоростей реакций с участием различных изотопных форм, т. е. соединений, полностью аналогичных по составу и строению, но отличающихся присутствием в одной или нескольких позициях разных изотопов данного элемента. В системе взаимодействующих частиц частицы меньшей массы обладают большей скоростью, а молекулы, содержащие легкий изотоп, подвижнее, чем молекулы, содержащие тяжелый изотоп. В соответствии с теорией абсолютных скоростей химических реакций в реакциях участвуют не все молекулы, а только те из них, которые достигли энергии активации.

Другой фактор состоит в том, что химические связи, образуемые тяжелым изотопом, прочнее, чем одноименные связи, образуемые легким изотопом. Энергия активации соответствующих реакций с участием изотопно-тяжелой формы выше, чем с участием изотопно-легкой. Кинетический изотопный эффект химической реакции численно определяется соотношением констант скоростей реакций изо-

топных форм и зависит от разности энергий активации, но не зависит от их абсолютной величины. Иначе говоря, кинетический изотопный эффект зависит не от кинетики реакции, а только от различия кинетики реакции изотопных форм.

Если отношение констант скоростей реакций изотопных форм больше единицы, то продукты реакций обогащены легким изотопом, а в непрореагировавшем остатке накапливается тяжелый изотоп. В редких случаях это правило имеет исключения (например, в некоторых реакциях с участием ионов и радикалов). Кроме того, известно, что кинетический изотопный эффект зависит от величины различия масс изотопных молекул, температуры и разности энергий активации изотопных форм. Расчет кинетических изотопных эффектов для различных реакций требует знания скорости протекания реакции и ее ступенчатости, характеристики промежуточных продуктов и т. д.

Кинетический изотопный эффект имеет огромное значение в химии, биохимии и описан многими исследователями. Наиболее яркое и значимое явление — это обогащение изотопом  $^{13}\text{C}$  атмосферного углекислого газа как результат работы фермента рубиско (рибулозобисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа), который в первичных ферментативных актах фотосинтеза распределяет ядра  $^{13}\text{C}$ , обедняя синтезируемые сахара этим изотопом и обогащая им исходный  $\text{CO}_2$ .

Наиболее известным критерием кинетического эффекта является соотношение изотопов в триадах  $^{16}\text{O} — ^{17}\text{O} — ^{18}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S} — ^{33}\text{S} — ^{34}\text{S}$ ,  $^{42}\text{Ca} — ^{43}\text{Ca} — ^{44}\text{Ca}$ ,  $^{24}\text{Mg} — ^{25}\text{Mg} — ^{26}\text{Mg}$  и др. В этих триадах с высокой точностью выполняются соотношения  $\delta^{17}\text{O} = 0$ ,  $5\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{33}\text{S} = 0$ ,  $5\delta^{34}\text{S}$  и т. д.

### **Магнитный изотопный эффект**

Магнитный изотопный эффект — это зависимость скорости реакции (или вероятности рождения молекулы) от ядерного спина, его проекции, магнитного момента и энергии электрон-ядерного взаимодействия. Таким образом, при наличии электрон-ядерного магнитного взаимодействия реакции, будучи селективной по электронному спину, неизбежно оказывается селективной и по ядерному спину.

Ядерно-спиновая селективность, проявляющаяся магнитно-изотопным эффектом, является всеобщим фундаментальным свойством природы. Этот изотопный эффект демонстрирует зависимость скорости реакций от магнитного момента ядер реагентов; он управляет реакционной способностью через электрон-ядерные магнитные взаимодействия и сопровождается сортировкой (фракционированием) магнитных и немагнитных изотопов по химически разным продуктам. Распреде-

ление изотопов, индуцированное этим эффектом, и есть ядерно-спиновая память о рождении молекул, а срок ее хранения задан временем жизни самой молекулы. Магнитный изотопный эффект универсален: он сохраняет память о космохимическом, геохимическом и биохимическом происхождении молекул [2].

### **Основные положения биологического фракционирования изотопов**

Фракционирование изотопов в живых организмах состоит в том, что относительное содержание одного из изотопов в данном соединении увеличивается за счет уменьшения его содержания в другом. Фракционирование изотопов — следствие их физико-химической неравноценности, которая может сказываться либо на скоростях процессов, либо на энергетическом состоянии системы. В первом случае имеют место так называемые кинетические изотопные эффекты, во втором — магнитные [5].

Конфигурация электронных оболочек изотопных атомов одинакова. Поэтому в главных чертах, характеризующих химическое поведение элемента, они сходны. Однако различия изотопов (прежде всего по массе, а также по величине ядерного спина) приводят к тому, что изотопные формы соединений ведут себя несколько различно. В результате изотопный состав продукта реакции может отличаться от изотопного состава исходного соединения. Это различие и представляет собой изотопный эффект [5, 3].

Понятие биологического фракционирования изотопов химических элементов, образующих живое вещество (H, C, N, O, S), первоначально в той или иной мере связывалось с двумя фактами:

1. выявлением различий изотопного состава этих элементов в организмах и в соединениях неживой природы (подавляющая часть известных экспериментальных данных относится к углероду, что обусловлено той ролью, которую играет этот элемент в химии биологических соединений; углерод организмов обогащен легким изотопом  $^{12}\text{C}$  по сравнению с углеродом неорганических источников);
2. установлением кинетического изотопного эффекта, сопряженного с эффектом первичного карбоксилирования (другие изотопные эффекты в живых организмах, если и допускались, то считалось, что они имеют весьма ограниченное значение).

Систематическое изучение изотопного состава элементов природных соединений позволило в реальных чертах показать картину биогеохимического поведения изотопов, в результате чего было определено, что организмам присуще законо-

мерное распределение изотопов как между биомолекулами, так и внутри них. Во-первых, было показано, что биологическое фракционирование изотопов характеризуется не только изотопным смещением между теми или другими изотопами организма, но и глубокой дифференциацией изотопного состава внутри организма между индивидуальными соединениями, входящими в состав одной фракции, и даже внутри самих соединений. Во-вторых, отсутствие систематических различий изотопного состава между высшими и низшими растениями, между отдельными видами высших растений, между автотрофами и гетеротрофами (иначе говоря, отсутствие зависимости изотопного состава от надклеточной организации) свидетельствует о том, что биологическое фракционирование изотопов происходит на клеточном уровне, а сложные процессы транспорта веществ и межклеточного обмена, свойственные высшим организмам, играют гораздо меньшую роль в биологическом фракционировании изотопов. Поэтому обоснованными являются попытки многих исследователей найти причины биологического фракционирования изотопов в тех физико-химических процессах, которые сопровождают биосинтез органических соединений [5].

Считается, что биологическое фракционирование не связывается с какими-либо отдельными путями или этапами биосинтеза, а рассматривается как свойство, присущее всем биохимическим реакциям, протекающим в организмах. При этом предполагается, что во всех случаях действует весьма сходный механизм фракционирования изотопов. Общность механизма и универсальность природы изотопного эффекта в разных биохимических реакциях связывается с тем фактом, что все биохимические реакции протекают при обязательном участии ферментов [11].

### **Данные о фракционировании стабильных изотопов биогенных элементов в организме человека как новый вид информации о его физиологическом состоянии**

Общепринято считать, что здоровье человека определяется в значительной степени экзогенными факторами, а именно условиями окружающей среды в течение всех периодов его онтогенетического развития. Рецепция экзогенных факторов осуществляется с помощью формирования соответствующей информации в форме изменений состава соединений, которые принимают участие в метаболизме.

До настоящего времени явление метаболизма рассматривается в классическом понимании как вся совокупность биохимических реакций (главным образом, ферментативных), которые протекают в клетках и обеспечивают расщепление,

синтез и взаимопревращение сложных соединений. Авторы данной статьи акцентировали свое внимание на одной из неотъемлемых составляющих общего метаболизма организма — изотопном метаболизме. Изотопный метаболизм — межмолекулярное фракционирование изотопов на отдельных стадиях биохимических реакций (расщепление, синтез и взаимопревращение сложных соединений), вызванное различиями в фундаментальных свойствах атомных ядер изотопов — массовым числом и магнитным моментом. Это понятие было введено авторами в 2002 г.

В организме существуют два четких источника химической информации — макромолекулы (нуклеиновые кислоты и белки) и микромолекулы (аминокислоты, липиды, сахара), которые хорошо изучены и формируют основу современных исследований в биохимии, молекулярной биологии, химической биологии и в последнее время в геномике, протеомике и биоинформатике.

Связи между ними хорошо определены и в большинстве случаев несложно идентифицировать тот источник, которому принадлежит определенная часть информации. Большая часть биохимических проблем соотносится с макро- и микромолекулами и общий метаболизм оказывает существенное влияние на качественные и количественные характеристики химической информации этих источников [15].

Общеизвестно, что характеристики состояния генома, который несет полную программу развития организма, играют и будут играть все более значительную роль в диагностике многих болезней. Однако непосредственно в структуре генома не сказывается влияние факторов окружающей среды на организм, в которой реализуются процессы наследственной информации путем сложной системы сигналинга. Для современной биологии возможность охарактеризовать способ, с помощью которого окружающая среда интерферирует с генетической информацией, приводя к серии фенотипических модификаций, остается далеко нерешенной задачей.

Исследования протеома, который является множеством синтезированных в данный момент времени протеинов, могут помочь установить недавние события в окружающей среде и их влияние на здоровье человека. Можно сказать, что протеом является кратковременным отображением физиологического состояния и существует, вероятно, краткое время для метаболически активных протеинов. Таким образом, ни геном, ни протеом не обеспечивают долговременной записи физиологического статуса организма. Поэтому поиски новых источников информации, которые бы отражали влияние различных условий окружающей среды на ор-



ганизм человека в течение всей продолжительности его жизни, всегда были своевременными и актуальными.

Кроме отмеченных выше двух источников химической информации, есть основания допустить существование и третьего, очень существенного по своему значению. Это — изотопные соотношения биогенных элементов, относящихся как к микро- так и к макромолекулам, и обладающими многими общими характеристиками. Влияние процессов метаболизма на эти соотношения в настоящее время остается, в сущности, неизученным, хотя еще В. И. Вернадский отмечал их большое значение в жизнедеятельности живых существ: «...во всех случаях, медицинских и ветеринарных, должен быть поставлен вопрос, как действуют соли кальция, железа, магния, цинка и т.п. на организм. Одинаково ли действие их, изготовленных из обычных элементов и из элементов, прошедших через организм?» [4].

Внутримолекулярные соотношения изотопов содержат информацию (память), заложенную в молекулу при ее «рождении», т.е. это память о химической эволюции вещества как о совокупности огромного количества химических реакций. По этой памяти, по изотопным аномалиям можно реконструировать пути химической эволюции, проследить происхождение веществ в природе [2, 15].

Изотопные соотношения биогенных элементов являются составляющими многих биохимических процессов в организме, и поэтому можно полагать, что они являются потенциальными индикаторами его функционального состояния.

Так еще в 1969 г. Дегенсом было показано, что различие в изотопном фракционировании в различных биосистемах может быть объяснено обменными процессами [16].

Адаптация к неблагоприятным условиям сопровождается мобилизацией внутренних ресурсов, которые могут модулировать биологическое изотопное фракционирование. Было показано, что:

- такие изменения могут быть использованы в качестве интегрального показателя, характеризующего состояние биохимических процессов в организме;
- внутримолекулярные распределения изотопов могут быть чувствительны к любым отклонениям биосинтеза от нормы. Тем не менее, в естественных условиях такие отклонения не могут быть объяснены только изотопными эффектами.

Явление биологического изотопного фракционирования было достаточно изучено для H, C, O, N, Mg, Si, Se, Ca, Fe, Cu, Zn, Sc и др. Полученные результаты многочисленных исследований в целом поддержали гипотезу В. И. Вернадского о

том, что живые организмы могут выборочно использовать конкретные изотопы. В частности, В. И. Вернадский предположил, что различные изотопы химических элементов могут по-разному влиять на биоту. Что следует из его слов: «... я пришел к убеждению, что не исключена возможность влияния явлений жизни на состав изотопических смесей, т.е. на изменение в жизненном процессе атомного веса химических элементов, благодаря тому, что организм обладает способностью выбирать между изотопами, изменять состав изотопической смеси».

Это — гипотеза, но гипотеза, основанная на прочном эмпирическом обобщении, исходящем из огромного количества точно установленных фактов геохимии. Таким обобщением является утверждение о проявлении в жизненных процессах свойств атомов, а не только их соединений. «Жизнь в геохимическом аспекте — столь глубокое явление, что ее изучение заставляет по-новому относиться к крупнейшим положениям, лежащим в основе нашего понимания природы, к атому и пространству, в частности» [4]. Тем не менее, большинство проблем в этом направлении до настоящего времени остаются нерешенными.

### **Внутримолекулярное фракционирование органогенных элементов**

Среди общего количества имеющихся на сегодняшний момент сведений о биологическом фракционировании изотопов биогенных элементов наиболее часто встречаются работы по фракционированию изотопов органогенных элементов (С, Н, N, О), что обусловлено их подавляющим количеством в составе всех живых организмов на Земле. Такая распространенность связана с их способностью легко образовывать ковалентные связи посредством спаривания электронов и реагировать друг с другом, заполняя свои внешние электронные оболочки. Кроме того, среди элементов, способных образовывать ковалентные связи, они самые легкие, а поскольку прочность ковалентной связи обратно пропорциональна атомным массам связанных с ее помощью атомов, именно им отведена роль быть структурными элементами всех биогенных молекул.

Каждая стереохимически уникальная позиция С, Н, N и О во всех химических соединениях имеет изотопное соотношение, которое отражает химические и физические процессы анаболизма и катаболизма молекул, а также информацию об элементе. Так, при исследовании кодированных кодонами 21 аминокислоты было показано, что существуют 104 химически уникальные позиции С, 10 позиций N, а также 72 взаимозаменяемые позиции Н (с учетом внутренних —  $\text{CH}_2$  — как симметричных и имеющих идентичное изотопное соотношение). В организме физически разные компартаменты (например, плазма и органы) могут содержать аминокислоты с различным изотопным составом. Белки, синтезированные в от-

дельных органах, но присутствующие в том же физическом пуле (например, плазма), также могут представлять компартаменты с различными внутримолекулярными изотопными соотношениями, указывающими на их происхождение [15].

### **Фракционирование изотопов углерода в биосистемах живых организмов**

Впервые внутримолекулярную неоднородность углерода в биосистемах в 1961 г. обнаружили Р. Н. Abelson и Т. С. Hoering [14]. Исследуя изотопный состав аминокислот *Chlorella*, *Euglena* и других они обнаружили некоторые закономерности в распределении изотопов углерода, а именно то, что у большинства аминокислот углерод карбоксильной группы обогащен  $^{13}\text{C}$  относительно углерода декарбоксилированного остатка.

Что касается, гетеротрофов, то долгое время считалось, что они полностью наследуют изотопный состав пищи и фракционирования изотопов в их организме нет. Однако липиды и большинство белков млекопитающих образуются в их организме, а не наследуются из пищи.

Дальнейшие исследования показали, что изотопный состав различных тканей гетеротрофов имеет разный состав, тем самым указывая на наличие фракционирования изотопов при метаболизме.

Наиболее весомыми и информативными для объяснения процессов внутриклеточного фракционирования изотопов углерода в организме гетеротрофов стали исследования М. De Niro и С. Epstein и А. А. Ивлева с соавторами [7]. На базе проведенных исследований они сделали вывод: в каждый момент клетка находится в определенном функциональном состоянии, которое соответствует данному уровню ее энергетических и биосинтетических потребностей, контролируемых системой регуляторных связей. В определенном диапазоне этот уровень может меняться и изменять маршруты метаболических превращений и конкуренции за пируватный фонд, следствием чего является изменение соотношений частей пируватного фонда, которые используются для энергетики клетки и синтеза необходимых ей метаболитов. Как результат — возникают соответствующие изотопные вариации.

Годом позже Т. Lyon и М. Waxter представили первые данные о разном изотопном составе углерода различных тканей человеческого организма. Из результатов работы следует, что венозная кровь является наиболее обогащенной  $^{13}\text{C}$ , а тимус — наиболее обедненным (разница составляет около 7 ‰). Авторы пришли к выводу, что соотношение изотопов углерода в тканях не является постоянной вели-

чиной. Они представили первый всеобъемлющий набор данных по изотопному составу углерода различных тканей организма человека.

Можно сказать, что различные ткани человека характеризуются разнородными соотношениями изотопов углерода: кровь является наиболее обогащенной  $^{13}\text{C}$ , в то время как вилочковая железа является наиболее обедненной (разница составляет около 7 ‰).

Каждый химический элемент, как известно, имеет определенное количество изотопов, химические и физические свойства которых определяются электронной оболочкой, массой и магнитным моментом ядер, которым дополнительно обладают нечетные изотопы. Следовательно, наличие разных физических свойств четных и нечетных изотопов совершенствует механизмы реакционной способности природного химического элемента, уменьшает энтропию создаваемых ими химических систем, что определяется более низкими значениями необходимых энергетических затрат, увеличивает устойчивость существования самой системы в целом, т.е. *увеличивает ее адаптационный потенциал*.

Исходя из этого, авторы считают, что адаптационные процессы в живом организме зарождаются не столько на уровне химических элементов (совокупности атомов с одинаковым зарядом ядра  $Z$ ), сколько на уровне изотопов, т.е. отдельных четных и нечетных представителей этой совокупности, имеющих разные массы ядер и разные магнитные моменты для нечетных ядер. Именно наличие различных фундаментальных свойств четных и нечетных изотопов и создают тонкий адаптационный механизм, лежащий в основе как в адаптационном механизме на молекулярном уровне, так и в основе всех клеточных реакций вида, который поддерживает их приспособляемость к изменяющимся условиям существования. Этот вид адаптации авторы назвали *изотопной адаптацией*.

Кость (карбонат) обогащена  $^{13}\text{C}$  примерно на 10 ‰ по сравнению с мягкими тканями. Отсюда вытекает, что соотношение изотопов в той или иной ткани можно назвать её «изотопной картой». Однако следует сказать, что эти изотопные соотношения могут проявлять изменчивость в различных временных масштабах.

Эта изменчивость может быть связана с биоритмами, скоростью эндо- и экзогенных процессов в организме и состоянием окружающей среды. При этом разные ткани характеризуются также различной динамикой изотопных отношений из-за разной скорости обмена веществ.

Значения изотопных колебаний каждого элемента имеют определенные интервалы колебаний, обусловленные взаимодействием с окружающей средой. Это полностью согласуется с законом Молчанова (1967): «На протяжении эволюции способность выжить присуща только колебательным системам. Стабильные жесткие системы превращаются в инертные части окружающей среды, тогда как нестабильные — разваливаются» [10].

Фракционирование изотопов углерода в живых организмах обусловлено внутриклеточными процессами, а именно реакцией декарбоксилирования пирувата (рисунок 1).

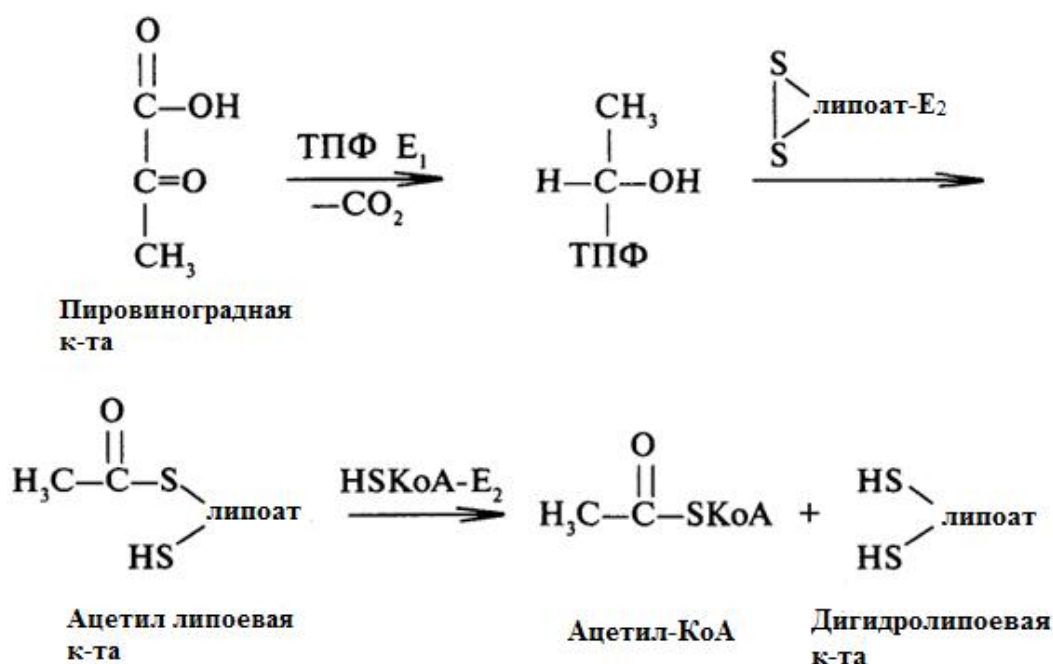


Рисунок 1 — Реакция декарбоксилирования пирувата

Именно на стадии распределения частей фонда пирувата на жизненно важные нужды организма и происходит фракционирование изотопов углерода. Часть фонда пирувата ферментативно декарбоксилируется, в результате чего образуется ацетил-*CoA* и  $\text{CO}_2$ . При этом расходуется облегченная часть пируватного фонда, в которой  $\text{C}_2$  и  $\text{C}_3$  атомы не содержат тяжелого изотопа. Это обусловлено тем, что энергия связи тяжелых изотопов превышает энергию связи легких изотопов и следовательно реакция декарбоксилирования пирувата протекает быстрее для легких молекул пировиноградной кислоты. Высвободившийся в процессе реакции углекислый газ вносит свой вклад в итоговый  $\text{CO}_2$ , который выдыхается организмом. Ацетил-*CoA* может вступить в цикл лимонной кислоты (цикл Кребса).

Другая часть пируватного фонда, обогащенная  $^{13}\text{C}$  (в результате истощения фонда субстрата), тратится на биосинтетические потребности.

В представленном механизме фракционирования изотопов углерода влияние магнетизма ядра  $^{13}\text{C}$  на этот процесс затруднено, поскольку ключевая стадия фракционирования изотопов, декарбоксилирования пирувата, протекает за счет реакции конденсации кофермента А и пировиноградной кислоты. Необходимым условием для проявления МИЭ является наличие неспаренных электронов на граничных молекулярных орбиталях, т.е. МИЭ характерен для реакций с участием радикалов или ион-радикалов.

Большое внимание изотопному отношению углерода в организме человека было уделено А. А. Ивлевым [17]. Им был исследован характер суточных кривых измерения изотопного состава углерода (ИСУ) выдыхаемого воздуха у людей в норме, при диабете и ожирении, зависимость ИСУ волос от состояния здоровья обследуемых, зависимость ИСУ сыворотки крови от характера эндокринного заболевания, вариации ИСУ  $\text{CO}_2$  выдыхаемого воздуха и мочевины мочи у здоровых людей, больных диабетом и лиц с ожирением. Диапазон суточных вариаций  $\delta^{13}\text{C}$  показал некоторые различия изотопных сдвигов при различных гормональных метаболических состояниях.

В 2008—2009 гг. нами были проведены исследования для выявления зависимости между внутримолекулярными изотопными соотношениями углерода венозной крови и функциональным состоянием организма. Было обследовано несколько групп людей разных возрастных категорий, среди которых были практически здоровые и лица, страдающие определенными заболеваниями.

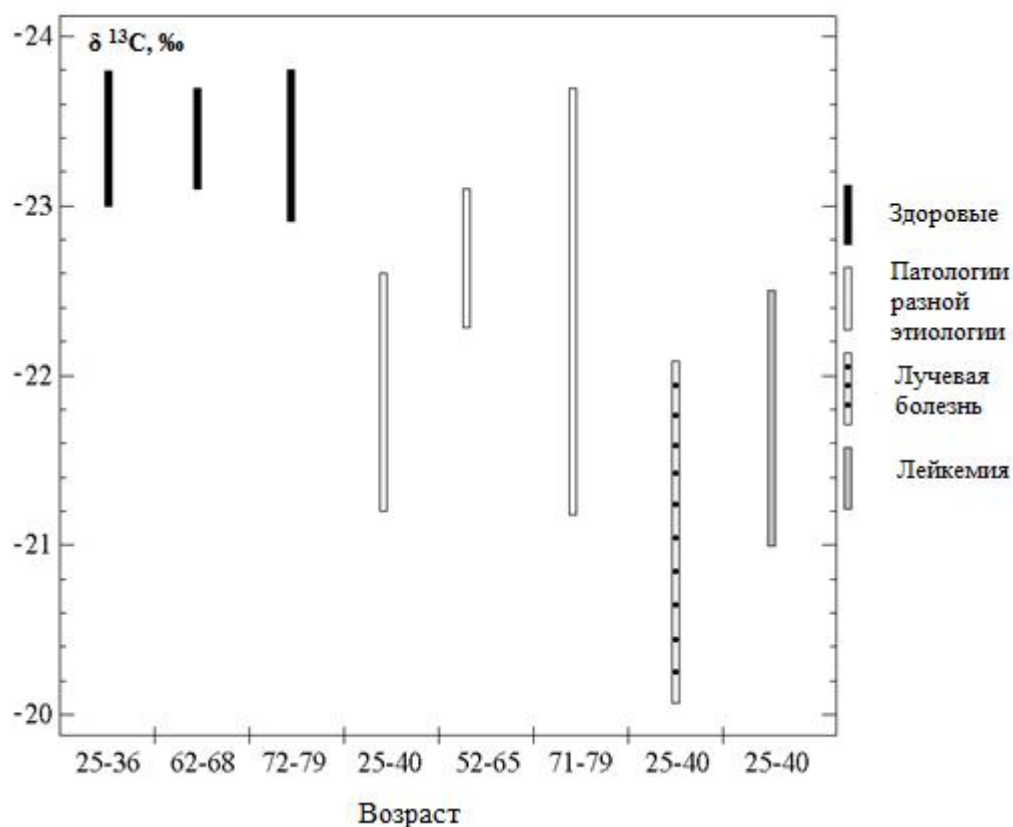


Рисунок 2 — Вариации изотопного состава углерода в тканях человека в зависимости от состояния организма

Изотопный сдвиг  $\delta^{13}\text{C}$  в крови у практически здоровых молодых людей находился в пределах  $-23,1$  —  $-23,7$  ‰, а у лиц пожилого возраста эта величина находилась в интервале  $-22,9$  —  $-23,7$  ‰. У больных людей разного возраста эти значения, соответственно, составляли  $-21,6$  —  $-22,9$  ‰ и  $-21,2$  —  $-22,9$  ‰ (рисунок 2).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии возрастных изменений уровня  $\delta^{13}\text{C}$  в крови (по крайней мере, на основании этого исследования) у практически здоровых людей и об отчетливом неспецифическом влиянии патологии на соотношение легких и тяжелых изотопов углерода в крови.

По-видимому, обогащение крови больных тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$  вызвано увеличением потребности клеток в энергии, что обусловлено изменением функционального состояния организма; при этом доля использования фонда пирувата в клетках для синтеза АТФ резко увеличивается, вызывая видимое накопление тяжелого изотопа в оставшейся части.

Можно предположить, что из-за включения в метаболические процессы определенного количества тяжелых изотопов многие клеточные белки не обменивают своих аминокислот (возможно через нарушение энергетической составляющей клеточного метаболизма) с «метаболическим фондом» аминокислот, используемых для биосинтеза того или иного белка.

Скорость накопления тяжелых, слабовыводимых и плоховыводимых клеточных диссимилянтов, определяется интенсивностью клеточного обмена на уровне организма.

Поэтому можно предположить, что накопление  $^{13}\text{C}$  в клетке вызывается нарушениями энергетической составляющей клеточного метаболизма, так как процессы декарбоксилирования и восстановительного аминирования (или трансаминирования) «утяжеленных» белковых АК могут сказаться на энергетическом состоянии системы. Вероятно, аналогичные явления наблюдаются и в случае биосистем, испытывающих влияние больших техногенных нагрузок.

Авторы данной статьи полагают, что частным случаем клеточного метаболизма, т. е. процессом перераспределения и обмена изотопов в живых организмах является изотопный метаболизм.

Если изотопный обмен, в широком смысле — это перераспределение изотопов между молекулами, которое не сопровождается явными макроскопическими или физико—химическими процессами, то при изотопном метаболизме перераспределение изотопов (особенно накопление более тяжелого изотопа того или иного биогенного элемента) может изменять интенсивность процесса, что в свою очередь находит отражение в изменении функциональной (биологической) активности организма.

Исследование степени проницаемости клеточных оболочек изотопными методами показало, что в действительности, практически все вещества проникают в клетку, при этом с более значительной скоростью проникают углеводы, аминокислоты, минеральные вещества (Na, Cl, K,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  и др.) Сорбционный механизм может приводить как к увеличению, так и к понижению накопления данного вещества в клетке. Таким образом, изучение направленности движения веществ из внешней среды в клетку и обратно имеет очень большое значение для понимания самых существенных свойств живых клеток, определяющих функциональную активность живых организмов. Например, накопление тяжелого изотопа углерода в клетке прямо пропорционально скорости проникновения в нее АК из внешней среды, в которых углерод является одним из основных элементов.



Путем изменения структуры молекул метаболита можно получить соединения, которые уже не могут нормально участвовать в обмене веществ и тормозят обмен соответствующих природных аналогов, в данном случае аминокислот (АК). Механизм действия антиметаболитов еще не достаточно изучен, однако известно, что они тормозят обмен природных продуктов. В некоторых случаях тормозящее действие снимается одновременным предварительным введением природного метаболита, в других — торможение устранить труднее или оно вообще необратимо.

Предполагается, что антагонистами природных АК могут стать не только метаболиты с измененной структурой молекулы, но и с измененным изотопным соотношением углерода. Таким образом, «утяжеленные АК» (то есть АК с повышенным содержанием  $^{13}\text{C}$ ) можно рассматривать как антиметаболиты природных АК, что может каким-то образом тормозить обмен веществ [12].

Описанный выше механизм фракционирования изотопов углерода вполне обоснован. Определяющим фактором фракционирования изотопов является разница в массах ядер  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$ . Однако открытие для  $^{13}\text{C}$  магнитного изотопного эффекта в химических реакциях поставило вопрос: могут ли различия магнитных свойств  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  «учитываться» биологическими системами в процессе своей жизнедеятельности.

### **Внутримолекулярное фракционирование изотопов водорода**

Водород имеет три изотопа: протий, дейтерий, тритий с массовыми числами 1, 2, 3. Протий и дейтерий — стабильные изотопы, тритий — радиоактивный (период полураспада 12, 26 лет). В природных соединениях дейтерий и протий содержатся в отношениях 1/6400 (по числу атомов). Тритий находится в природе в ничтожно малых количествах  $1, 3 \times 10^{18}$  Бк.

Магнитный момент дейтерия 0, 86  $\mu\text{B}$ , а протия — 2, 79  $\mu\text{B}$ . Спин протия равен  $\frac{1}{2}$ , а дейтерия — 1 и поэтому энергия сверхтонкого электрон-ядерного взаимодействия с протоном протия в 6, 5 раз больше, чем с протоном дейтерия. Из этого вытекает, что спиновая конверсия радикальных протонсодержащих пар значительно превосходит скорость конверсии дейтерированных пар от 6, 5<sup>2</sup> раз для короткоживущих пар, до 6<sup>1/2</sup> раз для долгоживущих пар.

Известно, что изотопы водорода поступают в человеческий организм, главным образом, с питьевой водой и пищей. Попадая в организм, вода становится участ-

ником разнообразных биохимических процессов, в результате чего ее атомы могут становиться структурными единицами различных соединений, синтезируемых организмом.

В клетках вода находится в особом структурированном состоянии, промежуточном между структурой жидкой воды и льда. Слои ориентированных молекул воды окружают все гидрофильные макромолекулы в протоплазме (в том числе молекулы белка и нуклеиновых кислот). По-видимому, более правильно говорить о соответствии каких-то свойств не непосредственно у одинаковых макромолекул, а у макромолекул, окруженных слоями структурированной воды. Такое соответствие может существенно нарушаться при неравномерном изотопном составе структурированной воды в клетке.

Изучением изотопного состава водорода организма человека до начала XXI века практически никто еще не занимался. Можно упомянуть только устное сообщение Н. Krouse об определении  $\delta D$  в моче человека. Им было установлено, что моча человека утяжелена примерно на 30 ‰ относительно изотопного состава местной водопроводной воды. В 2005 г. в Институте геохимии окружающей среды НАН Украины Ю. Н. Демихов поставил серию экспериментов по изучению изотопного состава водорода тканей, жидкостей и продуктов метаболизма у людей [6]. Вода человеческой крови, слюны, пота, урины характеризуется аналогичным изотопным составом водорода в пределах точности измерений. Эти вещества обогащены дейтерием на ~30 ‰ по сравнению с местной питьевой водой ( $\delta D = 74$  ‰). Увеличение  $\delta D$  в человеческой крови, слюне, поте, моче и по сравнению с местной питьевой водой должно быть скомпенсировано выделением надлежащего количества протия из человеческого организма. Наиболее вероятным способом может быть выведение протия из организма через секрецию сальных желез, что было подтверждено экспериментально на примере ушной серы.

В последнее время стали появляться работы, в которых изотопы  $^{13}C$  и D рассматриваются как потенциальный инструмент для борьбы с разрушительным действием оксидантов в организме человека [18]. Именно с действием свободных радикалов кислорода, являющихся побочными продуктами некоторых биохимических реакций, связывают разрушительные процессы в организме, приводящие к его старению.

Поодиочные данные о фракционировании изотопов некоторых биогенных элементов стали появляться еще в первой половине XX века. Однако эти исследования и получаемые данные скорее выявляли фракционирование изотопов в живых организмах как феномен, без объяснения и понимания возможных причин

этого фракционирования. Первые работы, в которых была предложена стройная теория фракционирования изотопов углерода для прокариот и эукариот, появились намного позже (конец 70-х — начало 80-х гг. XX века).

А. Л. Бучаченко с соавторами [2] впервые дали описание возможного механизма фракционирования изотопов Mg в организме млекопитающих. Ими было показано, что в процессе ферментативной реакции образования аденозинтрифосфата из креатинфосфата и аденозиндифосфата, скорость реакции фосфорилирования увеличивается вдвое в присутствии иона  $^{25}\text{Mg}^{2+}$ . Для изотопных форм  $^{24}\text{Mg}$  и  $^{26}\text{Mg}$  нет никаких различий в скоростях реакции. Такое поведение  $^{25}\text{Mg}$  было объяснено его магнитными свойствами.

Проведенные нами экспериментальные работы по исследованию изотопного состава магния в человеческом организме в 2009 г. показали, что у больных с явно выраженной патологией происходит обогащение крови  $^{25}\text{Mg}$ . Диапазон вариаций соотношений  $^{24}\text{Mg}/^{25}\text{Mg}$  для обследуемых с заболеваниями кровеносной и кроветворной системы составлял 7,36—7,50, в то время как у здоровых обследуемых этот интервал находился в диапазоне 7,56—7,76.

Изучению изотопа железа в составе кишечника человека посвящены работы исследователей Walczyk и фон Blanckenburg. Они обнаружили, что человеческая кровь и мышечные ткани имеют схожий изотопный состав по железу. Тенденция к обогащению крови человека  $^{54}\text{Fe}$  и истощению в  $^{56}\text{Fe}$  и  $^{57}\text{Fe}$  была поддержана и другими наблюдениями. Оценка фракционирования меди в крови человека была выполнена Марешалем с соавторами в 1999 г. Также было показано фракционирования изотопов цинка в организме человека. Кроме того, исследованием данного вопроса занимались Т. Ohno с соавторами в 2005 г.

Существует относительно мало доказательств наличия гендерных различий в процессах фракционирования стабильных изотопов. Этим вопросом занимались Walczyk и von Blanckenburg, которые показывают, что содержание  $\delta^{56}\text{Fe}$  и  $\delta^{57}\text{Fe}$  в крови мужчин ниже на ~0,3 ‰, чем у женщин.

Наиболее полные данные, касающиеся вариаций изотопов биогенных элементов в биосистемах в живых организмах, отражены в вышедшей в 2010 году монографии «Man and Geosphere» под редакцией доктора технических наук И. В. Флоринского [18].

По сравнению с исследованиями изотопных вариаций в растениях и животных, процессы изотопного фракционирования в организме человека еще малопонятны.

Однако уже сейчас можно утверждать, что естественные внутренние изотопные соотношения некоторых биогенных элементов могут нести дополнительную информацию о состоянии метаболических процессов в организме человека (как в норме, так и при наличии нарушений).

В различных отраслях человеческой деятельности находят применение моноизотопные или обогащенные одним изотопом препараты. Очень часто требуется обогащение плеед нечетным изотопом, например:  $^{13}\text{C}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{235}\text{U}$ ,  $^{239}\text{Pu}$  и т.д. Наибольший практический интерес представляет плееда изотопов урана, и именно для урана остро стоит проблема очистки от четных изотопов  $^{232}\text{U}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{236}\text{U}$ ,  $^{238}\text{U}$ . И если для разделения  $^{235}\text{U}$  и  $^{238}\text{U}$  масс-зависимые методы изотопного разделения (центрифугирование, диффузия, аэродинамические сопла и т.п.) в настоящее время хорошо разработаны и позволяют достичь требуемых результатов, то для остальных членов плееды  $^{232}\text{U}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{235}\text{U}$ ,  $^{236}\text{U}$  применение масс-зависимых методов разделения приводит к неудовлетворительным результатам, а именно к накоплению паразитных четных изотопов  $^{232}\text{U}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{236}\text{U}$  до недопустимо высоких концентраций. Именно поэтому, в частности, в недавнем прошлом в США отработанное ядерное топливо реакторов, ранее засматривавшееся как потенциальное сырье, в настоящее время переведено в отходы и не планируется к переработке.

Исследования влияния масс-независимого магнитного изотопного эффекта (МИЭ) на реакции, содержащие радикал-ионы с тяжелым радикалом ( $\text{UO}^{2+}$ ), показывают, что в дальнейшем это может быть связано с решением практических задач — новым способом обогащения изотопов урана в химических реакциях за счет различия в их магнитных свойствах [9].

## Литература

1. Бгатов А. В. Биогенная классификация химических элементов // Философия науки. — 1999. — № 2 — [www.philosophy.nsc.ru/journals/philscience/6\\_99/08\\_bgatov.htm](http://www.philosophy.nsc.ru/journals/philscience/6_99/08_bgatov.htm)
2. Бучаченко А. Л. Новая изотопия в химии и биохимии. — М.: Наука, 2007. — 189 с.
3. Бучаченко А. Л., Галимов Э. М., Ершов В. В. и др. Обогащение изотопов, индуцированное магнитными взаимодействиями в химических реакциях // Докл. АН СССР. — 1976. — 2, вып. 228. — С.379—381.
4. Вернадский В. И. О влиянии живых организмов на изотопические смеси химических элементов // Доклады АН СССР. — 1931. — № 6. — С. 141—147.

5. Галимов Э. М. Природа биологического фракционирования изотопов. — М.: Наука, 1981. — 247 с.
6. Демихов Ю. Н. Распределение изотопов водорода в организме человека // Доп. НАН України. — 2005. — №11. — С. 165—169.
7. Ивлев А. А., Князев Ю. А., Логачев М. Ф. Короткопериодические колебания изотопного состава углерода  $\text{CO}_2$  выдыхаемого воздуха в различных функциональных состояниях человека // Биофизика. — 1996. — 41, вып. 2. — С. 508—516
8. Ленинджер А. Л. Биохимия. — М.: Мир, 1976. — 957 с.
9. Лысенко О.Б., Демихов Ю. Н., Скульский Н. А., Соботович Э. В. Роль магнитного эффекта при фракционировании изотопов урана. — «Химическая физика» РАН, М., 2014 (в печати).
10. Молчанов А. М. Колебательные процессы в биологических и химических системах. — М.: Наука, 1967. — С. 274—288.
11. Рогинский С. З., Шноль С. Э. Изотопы в биохимии. — М.: Изд-во АН СССР, 1963. — 379 с.
12. Соботович Э. В., Лысенко О. Б., Шатило В. Б. Изотопный сдвиг углерода в крови человека как возможный индикатор функциональной активности // Радиация и Чернобыль. Ближайшие и отдаленные исследования. Под ред. Е.Ф. Конопки. — Гомель. Институт радиологии. — 2007. — С. 130—135.
13. Щепинов М. Легкость молодости, тяжесть воды: изотопы продлевают жизнь // Электрон. ресурс. Режим доступа: <http://sbio.info/page.php?id=12787>.
14. Abelson P. H, Hoering T. C. Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms. — Proc. Nat.Acad. Sci. USA, 1961. — 47, №5. — P. 623—632.
15. Brenna J. T. Natural intramolecular isotope measurements in physiology: elements of the case for an effort toward high-precision position-specific isotope analysis // Rapid Communicat. in Mass Spectrometry. — 2001. — 15. — P. 1252—1262.
16. Degens E. T., Behreng M., Gotthardt B., Reppmann B. Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton. — II. Data on samples collected of the coast of Peru and Ecuador. — Deep-Sea Res., 1968. — 15. — P. 11—20.
17. Ivlev A. A. Carbon isotope effects ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) in biological systems // Separat. Sci. Technol. — 2001. — 36. — P. 1819—1914.
18. Sobotovich E. V., Florinsky I. V., Lysenko O. B., Grodzinsky D. M. Role of isotopes in the biosphere // Florinsky I.V. (Ed.), Man and the Geosphere. — New York: Nova Science Publishers, 2010. — P. 33—68.

## Literature

1. Bgatov A. V. Biogennaya klassifikaciya himicheskikh elementov // *Filosofiya nauki*. — 1999. — № 2 — [www.philosophy.nsc.ru/journals/philsience/6\\_99/08\\_bgatov.htm](http://www.philosophy.nsc.ru/journals/philsience/6_99/08_bgatov.htm)
2. Buchachenko A. L. *Novaya isotopiya v himii i biohimii*. — M.: Nauka, 2007. — 189 s.
3. Buchachenko A. L., Galimov E. M., Ershov V. V. i dr. Obogasheniye isotopov, inducirovannoye magnitnymi vzaimodeystviyami v himicheskikh reakziyah // *Dokl. AN SSSR*. — 1976. — 2, vyp. 228. — S.379—381.
4. Vernadskiy V. I. O vliyani zhivyyh organizmov na isotopicheskiye smesi himicheskikh elementov // *Doklady AN SSSR*. — 1931. — № 6. — S. 141—147.
5. Galimov E. M. *Priroda biologicheskogo frakcionirovaniya isotopov*. — M.: Nauka, 1981. — 247 s.
6. Demihov Yu. N. Raspredeleniye isotopov vodoroda v organizme cheloveka // *Dop. NAN Ukrainy*. — 2005. — №11. — S. 165—169.
7. Ivlev A. A., Knyazev Yu. A., Logachev M. F. Korotkoperiodicheskiye kolebaniya isotopnogo sostava ugleroda CO<sub>2</sub> vydyhaemogo vozduha v razlichnykh funkczionalnykh sostoyaniyah cheloveka // *Biofizika*. — 1996. — 41, vyp. 2. — S. 508—516.
8. Lenindzher A. L. *Biohimiya*. — M.: Mir, 1976. — 957 s.
9. Lysenko O. B., Demihov Yu. N., Skulskiy N. A., Sobotovich E. V. Rol' magnitnogo effekta pri frakcionirovanii isotopov urana. — «Himicheskaya fizika» RAN, M., 2014 (v pechati).
10. Molchanov A. M. Kolebatelnye process v biologicheskikh i himicheskikh sistemah. — M.: Nauka, 1967. — S. 274—288.
11. Roginskiy S. Z., Shnol S. E. *Isotopy v biohimii*. — M.: Isd-vo AN SSSR, 1963. — 379 s.
12. Sobotovich E. V., Lysenko O. B., Shatilo V. B. Isotopniy sdvig ugleroda v krovi cheloveka kak vozmozhniy indikator funkczionalnoy aktivnosti // *Radiacziya i Chernobyl'. Blizhayshiye i otdalenniye issledovaniya*. Pod red. E. F. Konopli. — Gomel'. Institut radiologii. — 2007. — S. 130—135.
13. Schepinov M. Legkost' molodosti, tyazhest' vody: isotopy prodlevayut zhysn' // *Elektron. resurs. Rezhym dostupa*: <http://sbio.info/page.php?id=12787>.
14. Abelson P. H, Hoering T. C. Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1961. — 47, №5. — P. 623—632.

15. Brenna J. T. Natural intramolecular isotope measurements in physiology: elements of the case for an effort toward high-precision position-specific isotope analysis // *Rapid Communicat. in Mass Spectrometry*. — 2001. — 15. — P. 1252—1262.
16. Degens E. T., Behreng M., Gotthardt B., Reppmann B. Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton. — II. Data on samples collected of the coast of Peru and Ecuador. — *Deep-Sea Res.*, 1968. — 15. — P. 11—20.
17. Ivlev A. A. Carbon isotope effects ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) in biological systems // *Separat. Sci. Technol.* — 2001. — 36. — P. 1819—1914.
18. Sobotovich E. V., Florinsky I. V., Lysenko O. B., Grodzinsky D. M. Role of isotopes in the biosphere // Florinsky I.V. (Ed.), *Man and the Geosphere*. — New York: Nova Science Publishers, 2010. — P. 33—68.