

УДК 550.42:546.027:504.7

ІЗОТОПНІ СПІВВІДНОШЕННЯ БІОГЕННИХ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У ЖИВОМУ ОРГАНІЗМІ ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ ІНДИКАТОР ЙОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ

**Е. Соботович, О. Лисенко, Ю. Деміхов, М. Скульський,
М. Лисенко, Т. Кошлякова**

ДУ «Інститут геохімії навколишнього середовища НАН України»

пр. Палладіна, 34а, Київ 03680, Україна

e-mail: lysenko.ob@gmail.com

*Пам'яті академіка Е.В. Соботовича, талановитого вченого
та доброї людини, багаторічного керівника цих робіт.*

Розглянуті теоретичні питання, що стосуються ролі внутрішньомолекулярних співвідношень ізотопів у функціонуванні живих організмів, зокрема людини. Особлива увага приділена ізотопному фракціонуванню вуглецю в організмі людини, як найбільш вивченого. Метою даної роботи є виявлення та вивчення стратегічного зв'язку між особливостями метаболічних перетворень в організмі людини, його функціональним станом та притаманними цьому організму внутрішньомолекулярними ізотопними співвідношеннями. Представлені власні експериментальні дослідження, проведені спільно з Інститутом геронтології, Інститутом гематології та Науковим центром радіаційної медицини АМН України з цієї проблеми. Простежується залежність між значеннями внутрішньомолекулярних ізотопних співвідношень окремих тканин людини та функціональним станом організму людини.

Ключові слова: органогенні елементи, внутрішньомолекулярні співвідношення ізотопів, фракціонування ізотопів, піруват, метаболізм.

Добре відомо, що усі існуючі на Землі живі організми складаються з цілком визначеного набору хімічних елементів, що генетично суворо контролюється та передається у тих самих співвідношеннях з покоління у покоління, тобто можна сказати, що хімічний склад будь-якої речовини – це важлива систематична ознака [14]. При цьому виникають два питання:

- чи є така передача абсолютно стабільною з покоління у покоління або ж вона

змінюється у процесі геохімічної еволюції земної поверхні, але зі швидкістю, що мало доступна людському сприйняттю?

- чи відповідає місце хімічного елемента у періодичній таблиці Менделєєва його ролі у живій речовині?

На сьогодні доведено, що співвідношення ізотопів біогенних елементів значно відмінне від природних концентрацій пригнічує метаболічні процеси, аж до летального результату. У літературі є згадка про лікувальний вплив моноізотопному (або близьких до моноізотопному) речовин на організм людини [12,49]. Щодо легких моноізотопних речовин то є згадки про їх позитивний вплив на біологічні системи [12,49]. Що стосується впливу природних концентрацій ізотопів на життєдіяльність живих організмів, в тому числі і людини, то питання залишається поки що дискусійним. Можна згадати вплив добових біологічних ритмів на ізотопний склад видиху людини, а також вплив патологій різної етіології на ізотопний склад вуглецю крові. Це підтверджується публікаціями [12,49].

Практично усі системи живого організму містять як стабільні, так і природні радіоактивні ізотопи, ядра яких різняться за рядом показників (маса, магнітний момент, квадрупольний момент, спіні). Фракціонування ізотопів у хімічних та біохімічних реакціях, індукованих ізотопними ефектами, базується на двох фундаментальних властивостях атомних ядер – масі та магнітному моменті. Мас-залежні ізотопні ефекти розподіляють ізотопні ядра за їх масами; магнітний ізотопний ефект фракціонує ядра за їх магнітними моментами [2]. Систематичне вивчення ізотопного складу елементів природних сполук дозволило у реальних рисах показати картину біогеохімічної поведінки ізотопів, у результаті чого було встановлено, що організмам притаманний закономірний розподіл ізотопів між біомолекулами та всередині біомолекул [5]. Практично це положення постулює, що, по-перше, біологічне фракціонування ізотопів характеризується не тільки ізотопним зміщенням між тими або іншими ізотопами організму і середовища, але й глибокою диференціацією ізотопного складу між біохімічними фракціями, індивідуальними сполуками, що входять до складу фракцій, і навіть всередині біомолекул. По-друге, відсутність систематичних відмінностей ізотопного складу між вищими та нижчими рослинами, між окремими видами вищих рослин, між автотрофами і гетеротрофами, інакше кажучи, відсутність залежності ізотопного складу від надклітинної організації, свідчить про те, що біологічне фракціонування ізотопів відбувається на клітинному рівні, складні процеси транспорту речовин та міжклітинного обміну, притаманні вищим організмам, відіграють набагато меншу роль у біологічному фракціонуванні ізотопів. Тому справедливі спроби багатьох дослідників з'ясувати причини біологічного фракціонування ізотопів у тих фізико-хімічних процесах, які супроводжують біосинтез органічних сполук [5]. Фракціонування ізотопів – наслідок фізико-

хімічної нерівноцінності ізотопів, і може відбиватися як на швидкості хімічних реакцій, так і на енергетичному стані та магнетизмі системи. Ізотопні співвідношення біогенних елементів є складовою багатьох процесів і тому їх можна розглядати як потенційних індикаторів функціонального стану організму.

Хімічний склад живих організмів. Хімічний склад сучасних організмів формувалася під дією двох процесів: з одного боку, це еволюція складу атмосфери, гідросфери, літосфери та біосфери; а з іншого – це життєво необхідна для організму концентрація вже існуючих всередині нього співвідношень елементів. Організми здатні вибірково поглинати та накопичувати деякі елементи з навколишнього середовища. У першу чергу це стосується легких хімічних елементів, оскільки вміст хімічних елементів в організмах зі зростанням атомної маси елемента частіше за все зменшується. Однак присутність деяких хімічних елементів (у кількості навіть декількох атомів на клітину) справляє великий вплив на процеси внутрішньоклітинного метаболізму. З цих позицій були зроблені спроби створити класифікацію так званих «життєво необхідних» хімічних елементів, нестача або надмірна кількість яких пригнічує життєдіяльність організму. Перелік хімічних елементів, які відносять до «життєво необхідних», варіює у різних дослідників у досить широких межах. Однак, на думку більшості класиків, у графі «життєво необхідні» незмінно повторюються 20 елементів. До чотирьох органогенних елементів (O, C, H, N) додаються P, S, Na, K, Mg, Ca, Cl, Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Se, Mo, I, Co [13]. Тим не менше, питання про те, які з виявлених у живій речовині хімічних елементів дійсно життєво необхідні, а які потрапляють до організму випадково за рахунок їжі, води та повітря (не наносячи йому при цьому значної шкоди), залишається дискусійним.

Стабільні ізотопи. Сфера використання людиною створених природою ізотопів стосується як органічного, так і неорганічного світу. Співвідношення ізотопів у живих та неживих об'єктах відображає їх попередню історію, тобто можна сказати за Бучаченко, що "ізотопи є носіми пам'яті про народження та перетворення молекул, а фракціонування ізотопів – це хімічна історія речовини. Функцію пам'яті ізотопи реалізують у двох напрямках. По-перше, вони приймають участь у створенні пам'яті, у її запасанні (через ізотопні ефекти в актах народження та перетворення молекул). По-друге, вони – наступники та зберігачі пам'яті як свідки хімічних подій (як сучасних, так і древніх, що відбувалися за багато тисячоліть до наших днів). Це давно доведено численними науками про Землю, які використовують ізотопні вимірювання у якості методів для вивчення важливих і раніше нерозв'язних проблем» [2]. Можна сказати, що стабільні ізотопи можуть бути застосовані в якості ізотопних індикаторів у двох випадках:

1. їх використання в якості «зовнішньої мітки» при надходженні до живого організму з

їжею, водою, повітрям або лікарськими препаратами, що дає можливість описувати фізіологічний стан, прогнозувати географічний регіон походження та раціон харчування живих організмів та інше;

2. при визначенні так званої «внутрішньої мітки», тобто при використанні власних співвідношені ізотопів організму;

Використання «внутрішньої мітки» усе частіше знаходить застосування для визначення та пояснення процесів, що протікають у живих організмах, зокрема у людини. Метою використання «внутрішньої мітки» є вивчення послідовності біохімічних перетворень, визначення конкуруючих паралельних реакцій та вимірювання швидкості утворення проміжних продуктів.

Природні ізотопні ефекти. Для успішного застосування ізотопів завжди важливо мати уявлення про властивості та відмінності не тільки самих ізотопів, але й одних і тих самих сполук різного ізотопного складу. Відомо, що фізичні та фізико-хімічні властивості речовин у випадку зміни ізотопного складу тим більші, чим менший номер хімічного елементу (при одній і тій самій різниці у атомних номерах елементів). «Внаслідок відмінностей у фізико-хімічних властивостях ізотопних молекул їх хімічні та фізичні перетворення зазвичай супроводжуються фракціонуванням ізотопів, тобто їх розподіленням між двома фракціями речовини з різними ізотопними відношеннями» [16]. Або, інакше кажучи, фракціонування ізотопів полягає в тому, що відносний вміст одного з ізотопів у даній сполуці збільшується за рахунок зниження його вмісту в іншій, тобто фракціонування ізотопів є наслідком їх фізико-хімічної нерівноцінності, що може позначатися на швидкостях процесів, енергетичному стані та ядерному магнетизмі системи. Процеси фракціонування ізотопів (її розділення між двома фракціями) у неживій речовині на сьогодні можна вважати достатньо добре вивченими. Для того, щоб отримати повне пояснення виявленим природним ізотопним ефектам (табл. 1), автори вважають доцільним проаналізувати ті основні ізотопні ефекти, що індукують фракціонування ізотопів у біологічних системах. Тому при описанні ізотопних елементів автори зупинилися тільки на тих, які проявляються у біосистемах.

Класифікація ізотопних ефектів

Фізичні властивості. Відмінності, в яких обумовлюється ізотопний ефект (I. e.)	Ізотопний ефект		
	Тип	Різновид	Проявлення у біосистемах
Маса. I. e. I роду	Інерціальний	Гравітаційний	Не виявлений
		Дифузійний	Виявлений у фотосинтезуючих рослин
		Електромагнітний (розділення ізотопних іонів у електричному і магнітному полі)	Наявність ефекту вимагає подальших досліджень
	Корпускулярно-хімічний	Фазовий	Встановлений авторами у системі «видихуване повітря-кров»
		Адсорбційний	Наразі немає свідчень
	Хімічний	Термодинамічний	Виявлений внутрішньомолекулярний ізотопний ефект. Наявність міжмолекулярного ізотопного ефекту є дискусійним предметом
		Кінетичний	Добре вивчений для фотосинтезуючих рослин
		Фотохімічний	Немає свідчень
		Тунельний	Немає свідчень
	Спін, магнітний момент. I. e. II роду	Ядерно-хімічний	Ядерно-спіновий (магнітний)

Як видно з табл. 1, з ізотопних ефектів I роду (або мас-залежних ефектів) у біосистемах, свій вплив проявляють фазовий та хімічні (кінетичний і термодинамічний) ізотопні ефекти. Ізотопні ефекти II роду або мас-незалежні ефекти, були виявлені у радикальних та іон-радикальних хімічних реакціях. Оскільки деякі біохімічні процеси у живих організмах протікають також за іон-радикальним механізмом, тут можна очікувати на прояв ізотопних ефектів II роду.

Фазовий ізотопний ефект. Основний внесок у формування ізотопного складу атмосферних опадів, а відповідно і поверхневих вод континентів, вносить фракціонування ізотопів при конденсації водяної пари; фракціонування при випаровуванні справляє менший вплив. Слід відмітити, що для атмосферних опадів та поверхневих вод континентів зазвичай спостерігається кореляційна залежність між δD та $\delta^{18}O$, яка зберігається такою і при замерзанні води. Процес протікає в умовах, близьких до рівноважних, і призводить до збагачення льоду D та ^{18}O . У живих організмах можна було б очікувати на наявність фазового ефекту у системі «видихуване повітря-кров» на межі пара-рідина у легенях. Такий прогноз був нами підтверджений у результаті проведення серії експериментів по

дослідженню ізотопного складу водню: видихуваної людиною води, атмосферної води, біологічних рідин, тканин та продуктів метаболізму людини [17].

Хімічний ізотопний ефект складається з термодинамічного та кінетичного ефектів.

Термодинамічний ізотопний ефект заснований на прагненні системи ізотопних молекул до мінімуму енергії. Дійсно, квантово-статистичні розрахунки термодинамічних станів системи з двох атомів показують, що енергія такої системи змінюється при перерозподілі ізотопів у ній та прямує до мінімуму. Таким чином, для ізотопів водню не слід очікувати змін напрямку ізотопних ефектів на зворотній при переході від дейтерію до тритію.

Кінетичний ізотопний ефект (KIE) заснований на відмінності абсолютних швидкостей реакцій ізотопних молекул. У ряді фізико-хімічних процесів, що протікають у нерівноважних умовах, розділення ізотопів може відбуватися за рахунок кінетичних факторів. Частка важких молекул зі швидкістю, яка обумовлює протікання хімічної реакції, менша за частку легких молекул, тому більша частина легких молекул візьме участь у реакції. Таким чином, хімічний кінетичний ефект не може призвести до порушення закономірності фракціонування у тріадах ізотопів.

Для ізотопів водню (тритію, дейтерію і протію) відмінність у швидкостях протікання реакцій, в яких беруть участь ізотопні молекули, обумовлена як різницею мас молекул, так і зміною енергії активації. Якщо ж обидві молекули важкі, ізотопний склад мало впливає на їх маси. Відповідно, за хімічних ізотопних ефектів ізотопи водню повинні поводити себе синхронно і проявом хімічних ізотопних ефектів не можна пояснити принципову відмінність у поведінці протію, дейтерію і тритію у біосистемах (про що буде мова нижче).

Дифузійний ізотопний ефект. У випадку фотосинтезуючої фіксації вуглецю вищими рослинами, морськими водоростями та автотрофними бактеріями, одним із процесів, що відповідає за фракціонування вуглецю, є дифузія CO₂ всередину та назовні з тканин рослин.

За аналогією до фотосинтезуючої фіксації вуглецю, можна очікувати на вплив дифузії на ізотопний склад легких елементів і у між- та внутрішньоклітинних процесах, в тому числі і у гетеротрофних організмах. Цей ефект носить кінетичний характер і не повинен змінити направленість процесів для дейтерію і тритію.

Ядерно-спіновий (магнітний) ізотопний ефект (MIE). Деякі хімічні реакції, передусім радикальні та іон-радикальні, пов'язані зі зміною сумарного електронного спіну реагуючої системи або, як говорять, зміною спінової мультиплетності, наприклад її переходом з триплетного стану до синглетного. Енергія, що характеризує цей перехід, залежить від взаємодії спінів електронів та ядер. Внаслідок цього вірогідність хімічних реакцій виявляється залежною від наявності ядерного спіну та величини його взаємодії з

електронним спіном – так званої надтонкої взаємодії. Оскільки у загальному випадку ізотопи одного елементу можуть розрізнятися за величиною ядерного спіну, швидкість реакції для ізотопних сполук може виявитися різною, що і передбачає наявність ізотопного ефекту. На відміну від КІЕ величина МІЕ залежить від магнітного поля, температури, молекулярної та хімічної динаміки, а також спінового стану реагентів. МІЕ призводить до фракціонування магнітних і немагнітних ізотопів у хімічних, біохімічних, геохімічних та космічних процесах. Механізм МІЕ може реалізовуватися у хімічних радикальних реакціях. Як відомо, у молекулах електрони спарені і спіни електронів скомпенсовані, тобто сумарний електронний спін дорівнює нулю. Такий стан називається синглетним (S). При розпаді молекули на радикали відбувається розпарування електронів та наступна рекомбінація радикалів може бути утруднена необхідністю компенсування спінів. Тому МІЕ та ізотопне фракціонування великою мірою залежать від магнітної, електрон-ядерної енергії, від величини зовнішнього магнітного поля, від обертальної і трансляційної дифузії партнерів, від в'язкості та замкненості об'єму, від часу життя радикалів. Для пари H/D можуть існувати і мас-залежний ефект, і МІЕ, причому вони навіть сумірні. Однак для більш важких ядер, починаючи з вуглецю, МІЕ на порядок перевищує мас-залежний ізотопний ефект. У класичній ізотопії (мас-залежній) усі постулати фракціонування прийняті, виходячи з маси ядер. У ній хімічно більш активні молекули з легкими ядрами. У магнітній ізотопії, як правило, більш активними є молекули з магнітними ядрами.

Дані про фракціонування стабільних ізотопів біогенних елементів в організмі людини як новий вид інформації про його фізіологічний стан. Загальноприйнято вважати, що здоров'я людини визначається значною мірою екзогенними факторами, а саме умовами навколишнього середовища протягом усіх періодів його онтогенетичного розвитку. Рецепція екзогенних факторів здійснюється за допомогою формування відповідної інформації у формі змін складу сполук, що беруть участь у метаболізмі. В організмі існують два чітких джерела хімічної інформації – макромолекули (нуклеїнові кислоти та білки) і мікромолекули (амінокислоти, ліпіди, цукри), що добре вивчені і формують основу сучасних досліджень у біохімії, молекулярній біології, хімічній біології і останнім часом у геноміці, протеоміці та біоінформатиці. Зв'язки між ними добре визначені і у більшості випадків нескладно ідентифікувати те джерело, якому належить певна частина інформації. Більша частина біохімічних проблем співвідноситься з макро- і мікромолекулами і загальний метаболізм справляє істотний вплив на якісні та кількісні характеристики хімічної інформації цих джерел [26].

Загальновідомо, що характеристики стану геному, який несе повну програму розвитку організму, відіграють і будуть відігравати усе більш значну роль у діагностиці багатьох

хвороб. Однак безпосередньо у структурі геному не позначається вплив факторів навколишнього середовища на організм, у якому реалізуються процеси спадкової інформації шляхом складної системи сигналіngu. Для сучасної біології можливість охарактеризувати спосіб, за допомогою якого навколишнє середовище інтерферує з генетичною інформацією, приводячи до серії фенотипічних модифікацій, залишається далеко невирішеною задачею. Дослідження протеому, що є множиною синтезованих у даний момент часу протеїнів, можуть допомогти встановити нещодавні події у навколишньому середовищі та їх вплив на здоров'я людини. Можна сказати, що протеом є короткочасовим відображенням фізіологічного стану і існує, ймовірно, короткий час для метаболічно активних протеїнів. Таким чином, ані геном, ні протеом не забезпечують довготривалого запису фізіологічного статусу організму. Тому пошуки нових джерел інформації, що відображали б вплив різних умов навколишнього середовища на організм людини протягом усієї тривалості її життя, завжди були своєчасними і актуальними.

Окрім відмічених вище двох джерел хімічної інформації, є підстави припустити існування і третього, дуже істотного за своїм значенням. Це – ізотопні співвідношення біогенних елементів, що належать як до мікро-, так і до макромолекул, і володіють багатьма спільними характеристиками. Вплив процесів метаболізму на ці співвідношення на сьогодні залишається, у сутності, невивченим, хоча ще В.І. Вернадський відмічав їх велике значення у життєдіяльності живих істот: «...у всіх випадках, медичних та ветеринарних, повинно бути поставлене питання, як діють солі кальцію, магнію, цинку і т. д. на організм. Чи однакова дія їх, виготовлених зі звичайних елементів та з елементів, що пройшли крізь організм?» [3].

Внутрішньомолекулярні співвідношення ізотопів містять інформацію (пам'ять), що закладена у молекулу при її «народженні», тобто це пам'ять про хімічну еволюцію речовини як про сукупність великої кількості хімічних реакцій. За цією пам'яттю, за ізотопними аномаліями можна реконструювати шляхи хімічної еволюції, прослідкувати походження речовин у природі [2, 26]. Ізотопні співвідношення біогенних елементів є складовими багатьох біохімічних процесів в організмі, і тому можна вважати, що вони є потенційними індикаторами його функціонального стану. Так ще у 1969 р. Degens et al. [27] було показано, що різниця у ізотопному фракціонуванні в різних біосистемах може бути пояснена обмінними процесами. Адаптація до несприятливих умов супроводжується мобілізацією внутрішніх ресурсів, які можуть модулювати біологічне ізотопне фракціонування. Було показано, що:

- такі зміни можуть бути використані у якості інтегрального показника, що характеризує стан біохімічних процесів в організмі;
- внутрішньомолекулярні розподіли ізотопів можуть бути чутливими до будь-

яких відхилень біосинтезу від норми. Тим не менше, у природніх умовах такі відхилення не можуть бути пояснені виключно ізотопними ефектами.

Явище біологічного ізотопного фракціонування було достатньо вивчено для Н, С, О, N, Mg, Si, Se, Ca, Fe, Cu, Zn, Sc та ін. Отримані результати численних досліджень у цілому підтвердили гіпотезу В.І. Вернадського [3] про те, що живі організми можуть вибірково використовувати конкретні ізотопи. Зокрема, В.І. Вернадський висунув припущення, що різні ізотопи хімічних елементів можуть по-різному впливати на біоту: «...я переконався, що не виключена можливість впливу явищ життя на склад ізотопічних сумішей, тобто на зміну у життєвому процесі атомної ваги хімічних елементів, завдяки тому, що організм має властивість обирати між ізотопами, змінювати склад ізотопічної суміші» [16]. Це – гіпотеза, але гіпотеза, заснована на потужному емпіричному узагальненні, що виходить з величезної кількості точно встановлених фактів геохімії. Таким узагальненням є твердження про прояв у життєвих процесах властивостей атомів, а не лише їх сполук. «Життя у геохімічному аспекті – настільки глибоке явище, що її вивчення змушує по-новому відноситися до найкрупніших положень, що лежать в основі нашого розуміння природи, зокрема до атому та простору» [3]. Тим не менше, більшість проблем у цьому напрямку до сьогодні залишаються невирішеними.

Внутрішньомолекулярне фракціонування органогенних елементів. Серед загальної кількості наявних на сьогодні свідчень про біологічне фракціонування ізотопів біогенних елементів найчастіше зустрічаються роботи з вивчення фракціонування ізотопів органогенних елементів (С, Н, N, О), що обумовлено їх переважною кількістю у складі усіх живих організмів на Землі. Така поширеність пов'язана з їх здатністю легко утворювати ковалентні зв'язки шляхом спарювання електронів та реагувати одне з одним, заповнюючи свої зовнішні електронні оболонки. Крім того, серед елементів, здатних утворювати ковалентні зв'язки, вони є найлегшими. А оскільки міцність ковалентного зв'язку обернено пропорційна атомним масам пов'язаних з його допомогою атомів, саме їм відведена роль бути структурними елементами усіх біогенних молекул. Кожна стереохімічно унікальна позиція С, Н, N та О в усіх хімічних сполуках має ізотопне співвідношення, що відображає хімічні та фізичні процеси анаболізму та катаболізму молекул, а також інформацію про елемент. Таким чином, при дослідженні кодованих кодонами 21 амінокислоти було показано, що існує 104 хімічно унікальні позиції С, 10 позицій N, а також 72 позиції Н (з урахуванням внутрішніх $-CH_2-$ як симетричних та тих, що мають ідентичне ізотопне співвідношення). У живому організмі фізично різні компартаменти (наприклад, плазма і органи) можуть містити амінокислоти з різним ізотопним складом. Білки, синтезовані в окремих органах, але присутні у тому ж фізичному пулі (наприклад, плазмі), також можуть

представляти компартаменти з різними внутрішньомолекулярними ізотопними співвідношеннями, що вказують на їх походження [26].

Починаючи з 2000 р., в Інституті геохімії навколишнього середовища НАН України спільно з Інститутом геронтології та Науковим центром радіаційної медицини АМН України були розпочаті дослідження з вивчення та визначення властивих (внутрішніх) ізотопних співвідношень деяких біогенних елементів (зокрема, вуглецю, магнію, водню, заліза) у тканинах людини. Кінцевою метою наших досліджень є виявлення та вивчення залежності між властивими (внутрішніми) співвідношеннями стабільних ізотопів цих елементів у тканинах людини та її функціональним станом [18, 20, 26].

Фракціонування ізотопів вуглецю в біосистемах живих організмів. Уперше внутрішньомолекулярну неоднорідність вуглецю в біосистемах у 1961 р. виявили Р.Н. Abelson та Т.С. Hoering [22]. Досліджуючи ізотопний склад амінокислот *Chlorella*, *Euglena* та інших вони виявили деякі закономірності у розподілі ізотопів вуглецю, а саме те, що у більшості амінокислот вуглець карбоксильної групи збагачений ^{13}C відносно вуглеця декарбоксильованого залишку. Що стосується гетеротрофів, то протягом довгого часу вважалося, що вони повністю успадковують ізотопний склад їжі і фракціонування ізотопів в їх організмі відсутнє. Однак ліпіди та більшість білків ссавців утворюються у їх організмі, а не успадковуються з їжі. Подальші дослідження показали, що ізотопний склад різних тканин гетеротрофів має різний склад, чим вказали на наявність фракціонування ізотопів при метаболізмі. Найбільш вагомим та інформативним для пояснення процесів внутрішньоклітинного фракціонування ізотопів вуглецю в організмі гетеротрофів стали дослідження М. De Niro та S. Epstein [29], а також А.А. Івлева зі співавт. [8, 9, 10, 11]. Ґрунтуючись на проведених дослідженнях, вони зробили висновок: у кожен момент клітина знаходиться у певному функціональному стані, що відповідає даному рівню її енергетичних та біосинтетичних потреб, що контролюються системою регуляторних зв'язків. У певному діапазоні цей рівень може змінюватися та змінювати маршрути метаболічних перетворень і конкуренції за піруватний фонд, наслідком чого є зміна співвідношень частин піруватного фонду, які використовуються для енергетики клітини і синтезу необхідних для неї метаболітів. Як наслідок – виникають відповідні ізотопні варіації. У 1977 р. М. De Niro та S. Epstein продемонстрували основний вплив ізотопів на перетворення пірувату на оцтовий альдегід у дріжджах за допомогою піруватдегідрогенази, що пізніше призводить до змін $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ у жирних кислотах дріжджів [30]. На рік пізніше Т. Lyon та М. Vaxter [44] представили перші дані про різний ізотопний склад вуглецю різних тканин організму людини. Результати роботи свідчать про те, що венозна кров є найбільш збагаченою ^{13}C , а тимус – найбільш збідненим (різниця складає близько 7‰). Автори дійшли висновку, що співвідношення ізотопів вуглецю у

тканинах не є сталою величиною. Вони представили перший всеосяжний набір даних з ізотопного складу вуглецю різних тканин організму людини (рис. 1).

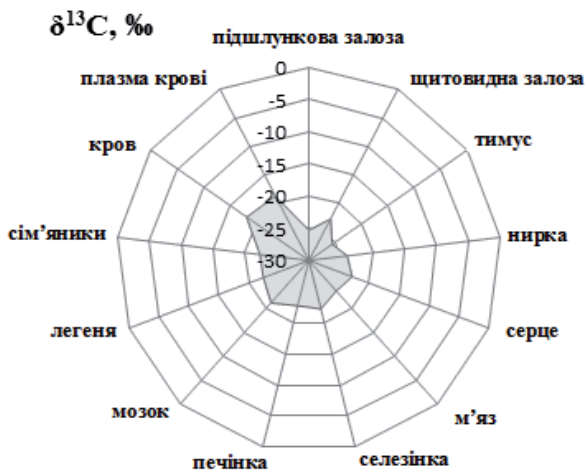


Рис. 1. Ізотопний склад деяких тканин та органів людини.

Можна сказати, що різні тканини людини характеризуються різномірними співвідношеннями ізотопів вуглецю: кров є найбільш збагаченою ¹³C, у той час як виловкова залоза – найбільш збіднена (різниця складає близько 7‰). Кістка збагачена ¹³C приблизно на 10 % у порівнянні з м'якими тканинами. Звідси випливає, що співвідношення ізотопів у тій чи іншій тканині можна назвати «ізотопною картою». Однак слід відмітити, що ці ізотопні співвідношення можуть проявляти мінливість у різних часових масштабах. Ця мінливість може бути пов'язана з біоритмами, швидкістю ендо- та екзогенних процесів в організмі та станом навколишнього середовища. Різні тканини характеризуються також різною динамікою ізотопних співвідношень через різну швидкість обміну речовин.

Аналізуючи кожні два тижні протягом вісьмох місяців зразки волосся голови та нігтів на вміст у них δD, δ¹³C, δ¹⁵N і δ¹⁸O. Fraser та ін. [34] у 2006 р. виявили відносно невеликі коливання δ¹³C та δ¹⁵N волосся (20,59±0,59‰ і 9,90±0,71‰ відповідно) і нігтів (21,14±0,56‰ і 10,06±1,04‰, відповідно). Великі коливання вмісту δD і δ¹⁸O були знайдені при дослідженні волосся (66,2±4,1‰ і 14,7±1,7‰ відповідно) та нігтів (60,7±7,6‰ і 13,1±1,5‰ відповідно).

Ще у 2001 р. O'Connell [47] зі співавторами виявили, що:

- колаген кісток збагачується відносно кератину волосся на 1,4‰ (δ¹³C) та 0,86 ‰ (δ¹⁵N);
- немає суттєвої різниці між вмістом δ¹³C у кератині волосся та нігтів;
- кератин нігтів збагачується δ¹⁵N по відношенню до кератину волосся на 0,65‰.

Тому було висунуто припущення про те, що відмінності у вмісті δ¹³C можуть бути

обумовлені відмінностями у амінокислотному складі кератину волосся і колагену кісток. Фракціонування ізотопів вуглецю у живих організмах обумовлене внутрішньоклітинними процесами, а саме реакцією декарбоксілювання пірувату (рис. 2).

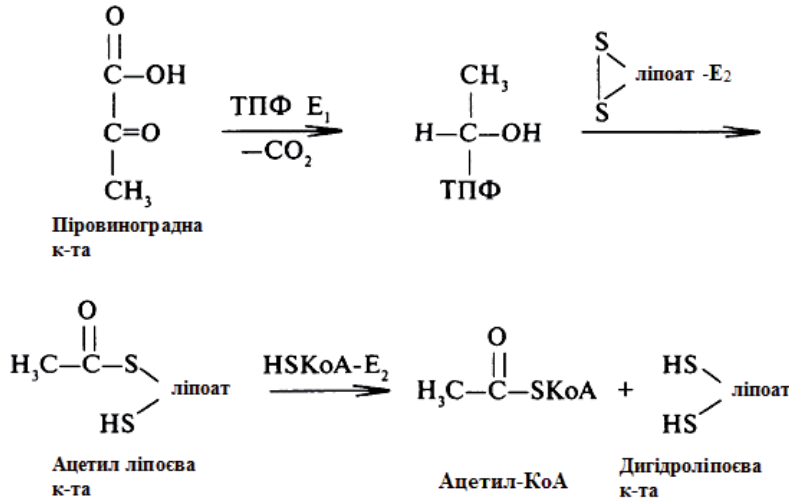


Рис. 2. Реакція декарбоксілювання пірувату.

Характер цього фракціонування багато в чому залежить від режиму харчування людини, оскільки практично усі вуглеводи, що потрапляють до організму, перетворюються на глюкозу, основна частина якої, у свою чергу, шляхом гліколізу розпадається до піровиноградної кислоти та утворює так званий піруватний фонд (рис. 3).

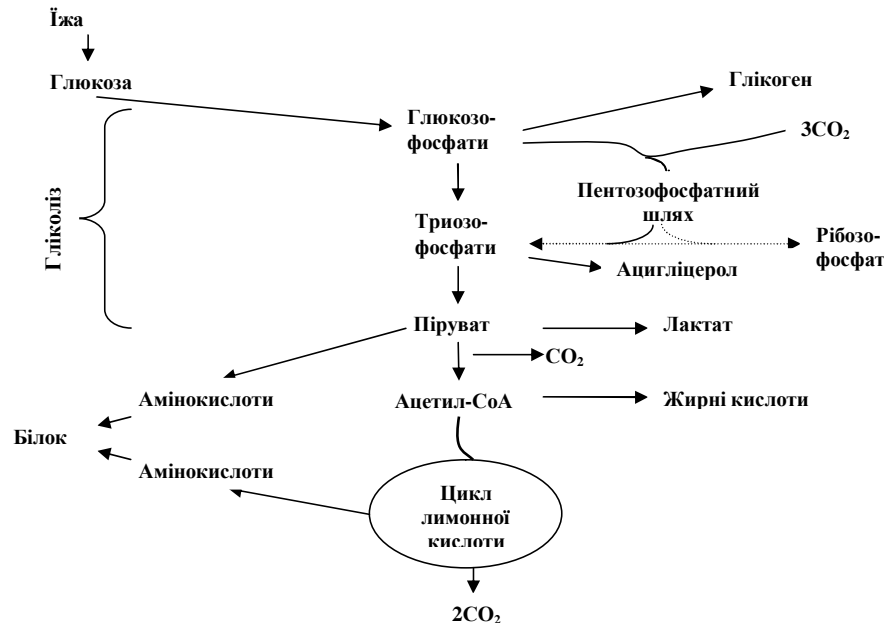


Рис. 3. Метаболічний ланцюг перетворення глюкози їжі, що надходить до організму людини.

Саме на стадії розподілення частин фонду пірувату на життєво необхідні потреби організму і відбувається фракціонування ізотопів вуглецю. Частина фонду пірувату ферментативно декарбоксилюється, у результаті чого утворюється ацетил-СоА та CO_2 . При цьому витрачається полегшена частина піруватного фонду, у якій C_2 і C_3 атоми не містять важкого ізотопу. Це обумовлено тим, що енергія зв'язку важких ізотопів перевищує енергію зв'язку легких ізотопів і відповідно реакція декарбоксилювання відбувається швидше для легких молекул пірвіноградної кислоти. Вивільнений у процесі реакції вуглекислий газ вносить свій внесок до підсумкового CO_2 , що видихається організмом. Ацетил-СоА може вступати до циклу лимонної кислоти (цикл Кребса). Інша частина піруватного фонду, збагачена ^{13}C (у результаті вичерпання фонду субстрату), витрачається на біосинтетичні потреби. У представленому механізмі фракціонування ізотопів вуглецю вплив магнетизму ядра ^{13}C на цей процес утруднений, оскільки ключова стадія фракціонування ізотопів, декарбоксилювання пірувату, протікає за рахунок реакції конденсації коферменту А та пірвіноградної кислоти. Необхідною умовою для появи МІЕ є наявність неспарених електронів на граничних молекулярних орбіталях, тобто МІЕ характерний для реакцій за участі радикалів або іон-радикалів.

Велику увагу ізотопному відношенню вуглецю у організмі людини було приділено А.А. Івлєвим [38]. Ним був досліджений характер добових кривих вимірювання ізотопного складу вуглецю (ІСВ) видихуваного повітря у людей в нормі, при діабеті та ожирінні, залежність ІСВ волосся від стану здоров'я обстежуваних, залежність ІСВ сироватки крові від характеру ендокринного захворювання, варіації ІСВ CO_2 видихуваного повітря та сечовини сечі у здорових людей, хворих на діабет та осіб з ожирінням. Діапазон добових варіацій $\delta^{13}\text{C}$ показав деякі відмінності ізотопних зміщень при різних гормональних метаболічних станах.

У 2008–2009 рр. нами були проведені дослідження, спрямовані на виявлення залежності між внутрішньомолекулярними ізотопними співвідношеннями вуглецю венозної крові та функціональним станом організму. Було обстежено декілька груп людей різних вікових категорій, серед яких були практично здорові та особи, що страждають на певні захворювання. Результати вимірювання ізотопного складу вуглецю венозної крові представлені на рисунку 4.

Ізотопний зсув $\delta^{13}\text{C}$ у крові практично здорових молодих людей знаходиться у межах $-23,1$ – $-23,7\%$, а у людей похилого віку ця величина знаходилася в інтервалі $-22,9$ – $-23,7\%$. У хворих людей різного віку ці значення склали, відповідно $-21,6$ – $-22,9\%$ та $-21,2$ – $-22,9\%$.

Отримані дані свідчать про відсутність вікових змін рівня $\delta^{13}\text{C}$ у крові (принаймні,

грунтуючись на цьому дослідженні) у практично здорових людей та про чіткий неспецифічний вплив патології на співвідношення легких і важких ізотопів вуглецю у крові.

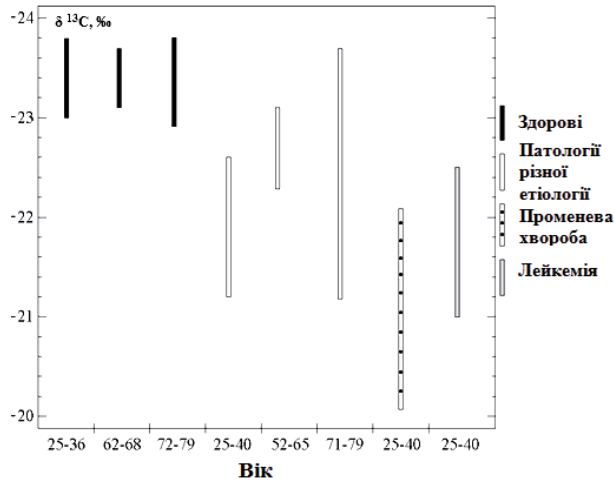


Рис. 4. Варіації ізотопного складу вуглецю у тканинах людини в залежності від стану організму.

Очевидно, що збагачення крові хворих важким ізотопом ^{13}C викликане збільшенням потреб клітин у енергії, що обумовлено зміною функціонального стану організму; при цьому частка використання фонду пірувату у клітинах для синтезу АТФ різко збільшується, викликаючи видиме накопичення важкого ізотопу у частині, що залишилася. Можна припустити, що через включення до метаболічних процесів певної кількості важких ізотопів багато клітинних білків не обмінюють свої амінокислоти (можливо через порушення енергетичної складової клітинного метаболізму) з «метаболічним фондом» амінокислот, що залучаються до біосинтезу того або іншого білка. Описаний механізм фракціонування ізотопів вуглецю цілком обґрунтований. Визначальним фактором фракціонування ізотопів є різниця у масах ядер ^{12}C та ^{13}C . Однак відкриття для ^{13}C магнітного ізотопного ефекту у хімічних реакціях поставило питання: чи можуть відмінності магнітних властивостей ^{12}C та ^{13}C «враховуватися» біологічними системами у процесі своєї життєдіяльності.

Виражені відмінності реакційних здібностей магнітних і немагнітних ядер вуглецю виявляються при радикальній полімеризації, оскільки магнітний ізотопний ефект «помножується» у ланцюговій реакції. Так, Turro et al. [57] досліджували емульсійну полімеризацію стіролу, що ініційована фотолізом двох хімічно тотожних ізотопних форм дібензолкетону $\text{PhCH}_2\text{COCH}_2\text{Ph}$ та $\text{Ph}^{13}\text{CH}_2\text{CO}^{13}\text{CH}_2\text{Ph}$. Ініціаторами полімеризації є бензольні радикали, що народжені переважно у вторинній радикальній парі ($\text{Ph}^{12}\text{CH}_2$ та $^{13}\text{CH}_2\text{Ph}$), яка виникає внаслідок швидкого декарбонілювання первинної триплетної пари бензольного та ацильного радикалів. Як показав експеримент, заміна немагнітного ядра ^{12}C

на його магнітного «близнюка» ^{13}C змінює хімічну активність радикалів на 30–40%. У першому випадку, де активним центром ініціації полімеризації є ^{12}C , швидкість та ступінь полімеризації набагато вища, ніж у другому, де активним центром ініціації полімеризації є ^{13}C . Це пов'язано з тим, що у другому випадку надтонка взаємодія індукує швидку спінову конверсію радикалів з активним ^{13}C з триплетного стану до синглетного, і вони переважно рекомбінують.

Внутрішньомолекулярне фракціонування ізоотопів водню. Водень має три ізотопи: протій, дейтерій та тритій з масовими числами 1, 2, 3. Протій та дейтерій – стабільні ізотопи, тритій – радіоактивний (період напіврозпаду 12,26 років). У природних сполуках дейтерій та протій містяться у співвідношенні 1/6400 (за числом атомів). Тритій знаходиться у природі у мізерних кількостях $1,3 \times 10^{18}$ Бк. Магнітний момент дейтерію $0,86 \mu\text{в}$, а протію – $2,79 \mu\text{в}$. Спін протію дорівнює $\frac{1}{2}$, а дейтерію – 1 і тому енергія надтонкої електрон-ядерної взаємодії з протоном протію у 6,5 разів більша, ніж з протоном дейтерію. З цього випливає, що спінова конверсія радикальних протонмістких пар значно перевищує швидкість конверсії дейтерованих пар від $6,5^2$ разів для короткоживучих пар, до $6^{1/2}$ разів для довгоживучих пар [2]. Такі відмінності у властивостях ядер можуть стати причиною особливостей поведінки тих чи інших ізоотопів у хімічних та біохімічних реакціях. Основні теоретичні та експериментальні дослідження щодо фракціонування водню в організмі людини виконані зав. лабораторії ізоотної хімії Ю.М. Деміховим. Водень входить до складу різних природних сполук у формі H_2 , ($-\text{OH}$), ($-\text{CH}$), ($-\text{SH}$) і ($-\text{NH}$); у земних умовах основна його маса входить до складу такої життєво необхідної сполуки, як вода. Відносна різниця мас ізоотопів водню максимальна, у зв'язку із цим природні варіації його ізоотного складу досягають у земних зразках 700%, що зумовило добру вивченість ізоотопних ефектів водню. Відомо, що ізотопи водню потрапляють до людського організму головним чином з питною водою та їжею. Потрапляючи до організму, вода стає учасником різноманітних біохімічних процесів, у результаті чого її атоми можуть ставати структурними одиницями різних сполук, що синтезуються організмом. Наявний приклад того, як ізоотопний склад води відображається на ізоотопному складі синтезованого організмом білку, наведений у праці [32]. Авторами показана пряма залежність між ізоотопним складом (H, O) волосся людини (що складається переважно з білку α -кератину) та споживаної питної води. У клітинах вода знаходиться у особливому структурованому стані, проміжному між структурою рідкої води та льоду. Шари орієнтованих молекул води оточують усі гідрофільні макромолекули у протоплазмі (у тому числі молекули білку та нуклеїнових кислот). Очевидно, правильніше говорити про відповідність певних властивостей не безпосередньо у однакових макромолекулах, а у макромолекулах, що оточені шарами структурованої води. Така відповідність може істотно

порушуватися при нерівномірному ізотопному складі структурованої води у клітині [4, 15].

За даними наукових досліджень 30-х років минулого століття, що стосуються впливу важкої води (D_2O) на життєдіяльність організмів, виникло уявлення про їх аномально високу чутливість до заміщення у середовищі протію (1H) на дейтерій (D). У результаті цього було зроблено висновок проте, що важка вода гальмує багато внутрішньоклітинних процесів, а поділ клітин стає неможливим вже за вмісту у середовищі більше 50% дейтерію. Однак у результаті більшої доступності D_2O стало можливим проведення систематичних кількісних досліджень впливу дейтерію на живий організм [43, 58]. Так, J. Katz встановив, що багато одноклітинних організмів (водорості та бактерії) за певних умов можуть розмножуватися при практично повному заміщенні у середовищі H_2O на D_2O [39]. Однак за прямого перенесення деяких видів водоростей або бактерій, що мають природний ізотопний склад, зі звичайної води у воду з високою концентрацією D_2O (70–100%), спостерігається своєрідний повний або частковий «анабіоз». У першому випадку повністю припиняється ріст та поділ клітин. У другому випадку значна частина клітин під час «анабіотичного періоду» продовжує рости без поділу, і може досягати величезних розмірів; деякі з них у десятки разів перевищують нормальні клітини. По закінченню певного періоду часу, різного для різних організмів, відбувається адаптація до незвичайного середовища, а клітини, що вижили, починають нормально рости та ділитися. Такі ж самі анабіотичні явища спостерігаються при поверненні до H_2O клітин, адаптованих до ізотопно чистої D_2O . Слід відмітити, що така адаптація була відсутня у організмів більш високого рівня організації [40]. Сильна антимиотична дія D_2O була виявлена вже у перших дослідках. Так, у 1938 р. Н. Varbour та E. Allen [23] описали уповільнення росту та обернений розвиток трансплантованої лімфосаркоми та карциноми грудної залози у мишей, що отримували в якості питної води 40% D_2O . Однак загальна тривалість життя уражених пухлинами мишей під дією D_2O виявилася меншою, ніж у контрольній групі. Ця ж проблема розглядається у інших працях [33, 37]. З останніх робіт можна виділити дослідження, у якому було показано, що активність розвитку раку підшлункової залози у культурі клітин AsPC-1, VxPC-3, і PANC-1 значно зменшується за послідовного застосування 10–30% D_2O та гемцитабіну (difluorodeoxycytidine). При цьому автори показали, що споживання води, яка містить 10–30% D_2O , істотно не впливає на рівень мононуклеарних клітин у периферійній крові, що свідчить про обмежену несприятливу дію D_2O на клітини кісткового мозку [36]. У інших працях, навпаки, відмічається позитивний (у доповненні до традиційних форм лікування) вплив саме полегшеної (за дейтерієм) води при лікуванні онкозахворювань. Протипухлинний ефект та безпечність «легкої води» для людини були підтверджені у клінічних дослідженнях при лікуванні раку простати [41]. Практично аналогічний протипухлинний вплив як важкої,

так і легкої води може свідчити про те, що у певному діапазоні вміст дейтерію у тканинах має велике значення для нормального функціонування організму. На перший погляд здається можливим пояснити «ізоотопний анабіоз» порушеннями геометричної відповідності макромолекул ДНК, РНК або білку при заміні ізоотопного водню. Структура цих макромолекул закріплена водневими зв'язками. Тому можна було б припустити, що невеликі відмінності у розмірах численних водневих зв'язків у макромолекулі можуть помітно спотворити трьохвимірні структури і таким чином зробити неможливим взаємодію протієвих макромолекул з дейтерієвими [16]. Однак істотним аргументом проти пояснення аномальних ефектів D_2O лише деформацією водневих зв'язків є результати дослідження Е. Vorek та D. Rittenberg [25]. Ці автори спостерігали анабіоз, схожий на дейтерієвий, для бактерій *E. coli* при їх перенесенні з $H_2^{16}O$ до 92% $H_2^{18}O$. Зміни розмірів та міцності водневих зв'язків при заміні ^{16}O на ^{18}O значно менші, ніж при заміні H на D, однак ступінь придушення D_2O і $H_2^{18}O$ росту і поділу клітин була одного і того ж порядку. Автори дійшли висновку, що зміна геометричної відповідності самих макромолекул при заміні води середовища не може бути повністю відповідальною за комплекс явищ, які спостерігаються.

У 60-ті роки минулого століття було опубліковано декілька праць, що стосуються вивчення особливих магнітних властивостей нуклеїнових кислот [31, 51]. Автори вважали, що зміни саме цих властивостей найбільш істотно проявляються при зміні ізоотопного складу води, яка знаходиться між макромолекулами, що беруть участь у редуплікації. Поява у хромосомах або у нитках ДНК ділянок з аномальним співвідношенням D/H у результаті різкої зміни ізоотопного складу води може призвести до змін їх магнітних властивостей, що обумовлює порушення передачі інформації і координації руху макромолекули, необхідних для нормального мітозу [31, 51]. Прикладом впливу різних магнітних властивостей ізоотопів водню на хід реакції може бути фотоліз двох дибензилкетонів – $PhCH_2COCH_2Ph$ і $PhCH_2COCD_2Ph$ [57]. По закінченні фотолізу був вимірний вихід $PhCH_2CH_2Ph$ та $PhCD_2CD_2Ph$, які отримуються шляхом рекомбінації вторинних радикальних пар, які утворюються після декарбонілювання первинних пар. Виявилось, що швидкість спінової конверсії радикальних протіймістких пар значно перевищує швидкість конверсії дейтерованих пар. У результаті вихід протієвого дибензилу склав 33%, а дейтерованого – тільки 28% [57].

Вивченням ізоотопного складу водню організму людини до початку XXI століття практично ніхто ще не займався. Можна згадати лише усне повідомлення Н. Krouse про визначення δD в урині людини. Ним було встановлено, що сеча людини поважчена приблизно на 30 % відносно ізоотопного складу місцевої водопровідної води. У 2005 р. в Інституті геохімії навколишнього середовища НАН України Ю.М. Деміхов поставив серію експериментів з вивчення ізоотопного складу водню тканин, рідин та продуктів метаболізму у

людей [7]. Вода людської крові, слини, поту, урини характеризується аналогічним ізотопним складом водню в межах точності вимірювань. Ці речовини збагачені дейтерієм на ~30% у порівнянні з місцевою питною водою ($\delta D=74\%$). Збільшення δD у людській крові, слині, поті, сечі та у порівнянні з місцевою питною водою повинно бути скомпенсоване виділенням належної кількості протію з людського організму. Наймовірнішим способом може бути виведення протію з організму через секрецію сальних залоз, що було підтверджено експериментально на прикладі вушної сірки (табл. 3) [7].

Останнім часом стали з'являтися роботи, у яких ізотопи ^{13}C і D розглядаються як потенційний інструмент для боротьби з руйнівною дією оксидантів в організмі людини [28, 53]. Саме з дією вільних радикалів кисню, що є побічними продуктами деяких біохімічних реакцій, пов'язують руйнівні процеси в організмі, які призводять до його старіння.

Вільні радикали кисню, які є агресивними акцепторами електронів, руйнують ламкі ланцюжки ДНК та інших білків переважно по зв'язкам $\text{C}-\text{C}$ і $\text{C}-\text{H}$, відбираючи у одного з атомів електрони. Заміна у ланцюжку макромолекули H і ^{12}C на D і ^{13}C , за твердженням авторів, повинна істотно збільшити енергію зв'язків (у випадку заміни H на D – у 80 разів), що буде сприяти меншій уразливості макромолекул при дії вільних радикалів кисню. Селективна заміна H і ^{12}C на D і ^{13}C у найламкіших

Таблиця 2

Ізотопний склад водню рідин і тканин людини

№ з/п	Зразок	$\delta D, \%$
1	Водопровідна вода	-74
2	Волога видиху людини	-83
3	Слина людини (вода)	-49
4	Кров людини (вода)	-48
5	Піт людини (вода)	-45
6	Урина людини	-44,5
7	Волосся людини	-78
8	Нігті людини	-82
9	М'ясо свині	-79
10	Вушна сірка людини	-161

для дії оксидантів ланках значно збільшує міцність макромолекули у цілому [53]. Однак питання про зміни енергетичної і конформаційної міжмолекулярної взаємодії (внаслідок порушення трьохвимірних структур макромолекул), а також електромагнітних властивостей макромолекули при заміні H і ^{12}C на D і ^{13}C автори не зачіпають.

Внутрішньомолекулярне фракціонування ізотопів азоту та кисню. Цікаві дані з фракціонування ізотопів азоту були отримані С. Metges та К. Petzke [46]. Вони визначили $\delta^{15}\text{N}$ тринадцяти вільних амінокислот у плазмі крові людини (рис. 5).

Фенілаланін та треонін були найбільш виснажені ^{15}N . Також були виявлені невеликі варіації $\delta^{15}\text{N}$ (від 10 до 15%) у аланіні, лейцині, проліні та орнітіні. У метаболічному відношенні фенілаланін та тірозин відрізняються за $\delta^{15}\text{N}$ на ~ 15 %.

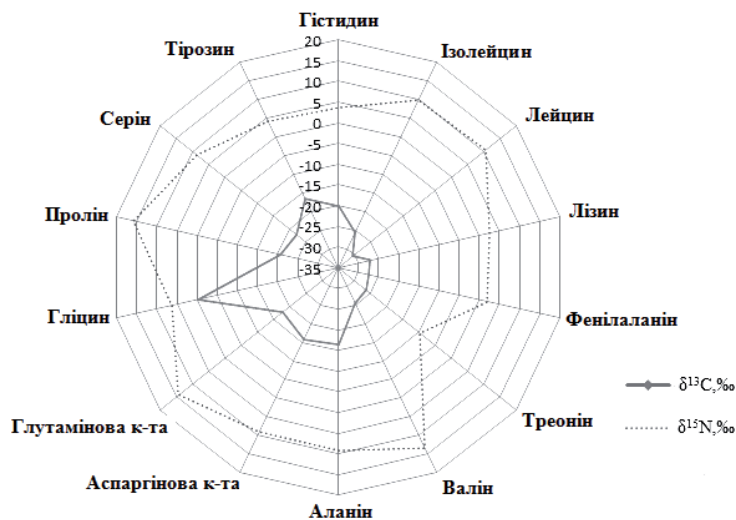


Рис. 5. Ізотопний склад деяких амінокислот у плазмі крові людини, виділених з α -кератину.

Пізніше К. Petzke et al. [50] виміряли $\delta^{15}\text{N}$ і $\delta^{13}\text{C}$ для чотирнадцяти амінокислот волосся людини (рис.6). Різниця між нижнім та верхнім значеннями окремих амінокислот за $\delta^{13}\text{C}$ була $\sim 30\%$ (лейцин та гліцин), а за $\delta^{15}\text{N}$ – $\sim 25\%$ (треонін та пролін). З даних, наведених на рис. 5, випливає, що найбільш мінімальні значення $\delta^{13}\text{C}$ мають так звані незамінні амінокислоти (гістидин-валін). Як відомо, ці амінокислоти не синтезуються в організмі еукаріот. Їх ізотопний склад (за вуглецем) залишається незмінним, оскільки вуглецевий ланцюг не змінюється у процесі біохімічних перетворень. Ізотопні зміни у таких амінокислотах можуть відчувати атоми водню та азоту. У випадку водню це пов'язано із тим, що енергія зв'язку С–Н низька, тому можливий ізотопний обмін з «навколишнім середовищем». У випадку азоту – з тим, що деяка частина незамінних амінокислот, в залежності від біосинтетичних потреб організму, може переаміновуватися, у результаті чого отримуються інші амінокислоти. Для замінних і частково замінних амінокислот спостерігається зовсім інша залежність. Такі амінокислоти, як аланін та аспарагінова кислота істотно збагачені ^{13}C по відношенню до амінокислот, котрі синтезуються з метаболітів циклу Кребса та мають дуже близькі значення $\delta^{13}\text{C}$. На нашу думку, це пов'язано з тим, що саме ці дві амінокислоти синтезуються безпосередньо з піруватного фонду (рис. 6).

Така амінокислота як тірозин безпосередньо в організмі не синтезується. Вона утворюється в організмі за ферментативного каталізу фенілаланіну або потрапляє в організм разом із їжею. Як показано на рисунку 6, амінокислоти серін та пролін не синтезуються безпосередньо з пірвіноградної кислоти.

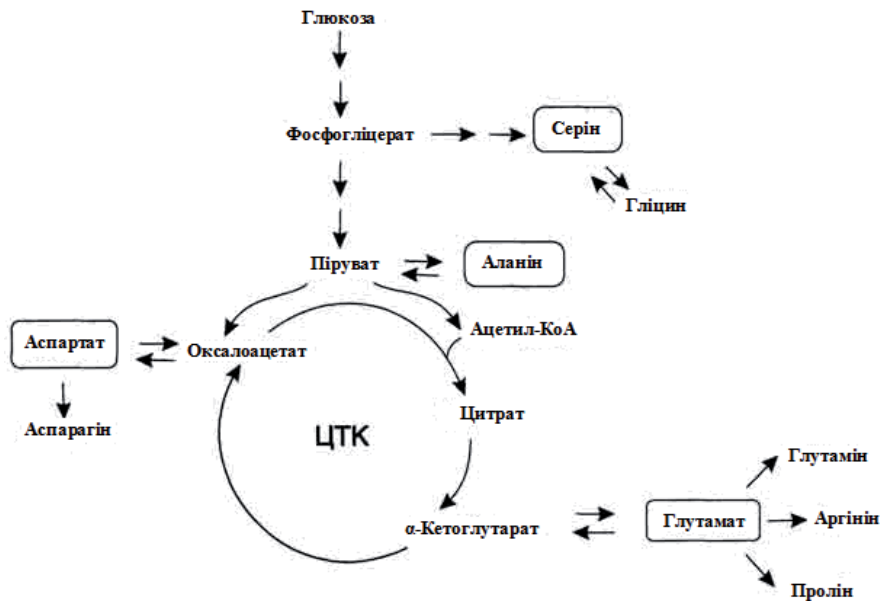


Рис. 6. Шляхи синтезу деяких із заміних амінокислот в організмі людини.

Найбільш збагачена ^{13}C амінокислота гліцин, може синтезуватися в організмі двома шляхами: або за допомогою ферментативного каталізу з серіну, або за безпосереднього синтезу з вуглекислого газу та аміаку. Оскільки серін є однією з найбільш збіднених за ^{13}C амінокислот, вірогідно, що великий внесок до синтезу гліцину вносить реакція його утворення з вуглекислого газу та аміаку. Виходячи з вищезазначеного, можна зробити висновок про те, що фракціонування ізоотопів вуглецю в організмі людини (і не тільки) є невід'ємною складовою метаболічних процесів, так званий «ізоотопний метаболізм». Ізоотопний метаболізм – міжмолекулярне фракціонування ізоотопів на окремих стадіях біохімічних реакцій (розщеплення, синтез та взаємоперетворення складних сполук), викликане відмінностями у фундаментальних властивостях атомних ядер ізоотопів – масовим числом та магнітним моментом. Це поняття було введено авторами у 2000 р. для пояснення процесів фракціонування ізоотопів при зміні функціонального стану організму. За відхиленнями у ізоотопних співвідношеннях можна судити про стан метаболічних процесів, що є ефективним інструментарієм діагностики функціонального стану організму.

В. Fuller зі співавторами [35] показали, що окрім дієти на значення $\delta^{15}\text{N}$ впливає рівень азотного балансу організму. Під час досліджень у вісьмох вагітних жінок, які знаходилися у стані стресу, викликаного ранковою нудотою та блювотою, були взяті зразки волосся та перевірені на $\delta^{13}\text{C}$ та $\delta^{15}\text{N}$. Вміст $\delta^{13}\text{C}$ у період ранкового нездужання при вагітності не змінився у порівнянні з періодом до вагітності. У той самий час, значення $\delta^{15}\text{N}$ збільшилося під час періоду втрати маси тіла, що пов'язано з ранковим нездужанням. По мірі збільшення

маси тіла, одужання після перенесеного стресу та наближення строку настання пологів відмічена тенденція до зменшення вмісту $\delta^{15}\text{N}$ у волоссі. Ці дані свідчать про те, що тканини людини знаходяться під впливом відхилення у гомеостазі азоту: катаболічний стан призводить до збільшення вмісту $\delta^{15}\text{N}$, тоді як анаболічний – до його зниження. Що стосується біологічного фракціонування ізотопів кисню, більшість наявних на сьогодні свідчень говорить про вплив на $\delta^{18}\text{O}$ тканин людини прямого та/або опосередкованого ізотопного співвідношення кисню у воді, що споживається [32].

Таким чином, у результаті ретельного огляду наукової літератури з цієї проблеми, що побачила світ на сьогоднішній день, та власних досліджень створюється банк даних ізотопних співвідношень С, Н, N та інших легких елементів у організмі людини в залежності від її здоров'я та віку. Ми вважаємо, що зміна співвідношень властивих (внутрішніх) стабільних ізотопів у організмі людини в залежності від патологічних змін, що викликані порушеннями метаболізму, можуть стати потенційною основою для створення та розробки критеріїв ранньої діагностики. Автори також вважають, що для розробки точних методів діагностики необхідно аналізувати ізотопний склад репрезентативного набору комплексу життєво необхідних елементів. На сьогодні існує достатньо велика кількість праць, які стосуються внутрішньомолекулярного фракціонування життєво необхідних мікроелементів, (серед них також наші розробки з внутрішньомолекулярного фракціонування Fe та Mg в організмі людини). У них показано, що організм селективно обирає певні ізотопи мікроелементів для біосинтетичних потреб; причому критерієм відбору є не маса, а наявність магнітного моменту у ядрі атома [26].

Варіації ізотопів деяких біогенних елементів у біосистемах живих організмів.

Починаючи з першої половини ХХ ст., багато дослідників займалися питанням фракціонування ізотопів біогенних елементів. Було доведено, що організмам притаманний певний розподіл ізотопів між біомолекулами та всередині біомолекул, що поведінка ізотопів ряду елементів у природі контролюється процесами, які відбуваються у біосфері, тому геохімічні дослідження усе частіше стали включати детальне вивчення ізотопного складу біологічних об'єктів. А.Л. Бучаченко зі співавторами [2] уперше дали опис можливого механізму фракціонування ізотопів Mg в організмі ссавців. Ними було показано, що у процесі ферментативної реакції утворення аденозинтрифосфату з креатинфосфату та аденозиндифосфату, швидкість реакції фосфорилування збільшується удвічі за присутності іону $^{25}\text{Mg}^{2+}$. Для ізотопних форм ^{24}Mg та ^{26}Mg немає жодних відмінностей у швидкостях реакції. Така поведінка ^{25}Mg була пояснена його магнітними властивостями. Подібні ефекти були отримані J.R. Black et al. [24] при дослідженні ізотопного складу магнію у хлорофілі-а за фотосинтезу.

Проведені нами експериментальні роботи з дослідження ізотопного складу магнію в організмі людини у 2009 р. показали, що у хворих з яскраво вираженою патологією відбувається збагачення крові ^{25}Mg . Діапазон варіацій співвідношень $^{24}\text{Mg}/^{25}\text{Mg}$ для обстежуваних із захворюваннями кровоносної та кровотворної системи складав 7,36–7,50, у той час коли у здорових обстежуваних цей інтервал знаходився у діапазоні 7,56–7,76.

Walczyk та фон Blanckenburg у своїх працях у 2002–2005 рр. [59, 60] показали, що ізотопний склад кишківника людини переважно містить легкий ізотоп заліза. Вони виявили, що людська кров та тканини м'язів мають схожий ізотопний склад за залізом (середній $\delta^{56}\text{Fe}$ є 2,74‰ і 2,58‰ відповідно); волосся збагачене ^{54}Fe ($\delta^{56}\text{Fe}=3,8\%$), а печінка збагачується ^{56}Fe (у середньому складає 1,37‰ $\delta^{56}\text{Fe}$). Середній вміст $\delta^{57}\text{Fe}$ людської крові оцінюється у 3,8‰. Т. Ohno et al. [48] визначив вміст $\delta^{56}\text{Fe}$ і $\delta^{57}\text{Fe}$ у еритроцитах людини, як близько 3‰ і 4,5‰ відповідно. Тенденція до збагачення крові людини ^{54}Fe та виснаження у ^{56}Fe та ^{57}Fe була підтримана також іншими спостереженнями. Marechal et al. співавторами у 1999 р. [45] уперше оцінили фракціонування міді у крові людини; вміст $\delta^{65}\text{Cu}=0,30\%$. Існує також доказ на користь фракціонування ізотопів цинку в організмі людини. Ті ж автори повідомили про те, що вміст $\delta^{66}\text{Zn}$ у цілісній людській крові, дорівнює 0,41%. Stenberg et al. [55] провели вимірювання вмісту $\delta^{66}\text{Zn}$ для людського волосся та цілісної крові (0,60‰ і 0,56‰ відповідно). Пізніше (2005 р.) Т. Ohno et al. оцінили вміст $\delta^{66}\text{Zn}$ та $\delta^{68}\text{Zn}$ для людського волосся, як 0,16‰ і 0,31‰, відповідно, у той час, як вміст $\delta^{66}\text{Zn}$ та $\delta^{68}\text{Zn}$ еритроцитів крові людини складає 0,43‰ та 0,83‰ відповідно. Сезонних коливань цих значень виявлено не було.

Існує відносно мало доказів наявності гендерних відмінностей у процесах фракціонування стабільних ізотопів. Дані Walczyk і von Blanckenburg [60] показують, що вміст $\delta^{56}\text{Fe}$ і $\delta^{57}\text{Fe}$ у крові чоловіків нижчий на ~0,3‰, ніж у жінок.

Найбільш повні дані, які стосуються варіацій ізотопів біогенних елементів в біосистемах у живих організмах, відображені у монографії «Man and Geosphere», яка побачила світ у 2010 р., під редакцією доктора технічних наук І.В. Флоринського [54].

У порівнянні з дослідженнями ізотопних варіацій у рослин та тварин, процеси ізотопного фракціонування в організмі людини поки що малозрозумілі. Однак вже зараз можна стверджувати, що природні внутрішні ізотопні співвідношення деяких біогенних елементів можуть бути носіями додаткової інформації про стан метаболічних процесів в організмі людини (як у нормі, так і за наявності порушень).

Особливості поведінки ізотопів різної парності у біологічних системах. Більшість хімічних елементів, як правило, являє собою суміш ізотопів, подібність хімічних властивостей яких обумовлює будову електронної оболонки. Ізотопи – це різновиди атомів

одного й того ж хімічного елементу, ядра яких містять однакову кількість протонів та різну кількість нейтронів. Відповідно, можливі наступні варіації співвідношень протонів та нейтронів у ядрі: непарно-непарне (${}^7_7\text{N}$ та ін.), непарно-парне (${}^8_7\text{N}$ та ін.), парно-непарне (${}^7_6\text{C}$, ${}^9_8\text{O}$ та ін.) та парно-парне (${}^6_6\text{C}$, ${}^8_8\text{O}$, та ін.). Відмінності у фундаментальних властивостях ядер ізотопів можуть формувати особливості поведінки ізотопів різної парності у хімічних і, особливо, в біохімічних реакціях. При вивченні поведінки стабільних і радіоактивних ізотопів вуглецю та водню нами були виявлені невідповідності у їх поведінці. Виявлене відхилення від мас-залежного лінійного ізотопного ефекту, зміст якого полягає у пропорційній зміні поведінки усіх ізотопів одного й того ж хімічного елементу закономірно зміні мас ізотопів. Такі особливості у поведінці радіоактивних ізотопів надзвичайно цікаві з огляду на актуальність проблем, пов'язаних зі щорічним збільшенням кількості тритієвих та радіовуглецевих викидів у навколишнє середовище, головним чином за рахунок антропогенних факторів (АЕС, заводи з переробки ядерного палива тощо).

Не дивлячись на достатньо велику кількість праць, які стосуються радіобіологічної дії тритію та радіовуглецю на живі організми, багато в чому лишаються нез'ясованими причини (механізми) їх накопичення у молекулярних структурах. Відмінності у поведінці можуть бути викликані відмінностями фізичних фундаментальних властивостей парних і непарних ядер ізотопів (парні – маса ядра, непарні – маса та спіні). Внаслідок цього ймовірність хімічних реакцій виявляється залежною від наявності ядерного спіну та величини його взаємодії з електронним спіном – так званої надтонкої взаємодії, що може позначатися на швидкості реакції для ізотопних молекул, на енергетичному стані та на ядерному магнетизмі системи. Іншою можливою причиною відмінності у поведінці стабільних радіоактивних ізотопів може бути відмінність у концентраціях згаданих ізотопів, тобто вплив наднизьких концентрацій хімічних агентів на біосистеми.

В Інституті геохімії навколишнього середовища НАН України протягом тривалого часу проводяться дослідження ізотопного складу тріад водню та вуглецю у біосистемах (рослинність, ссавці, у тому числі людина). При систематизації отриманих результатів були виявлені суперечливі особливості поведінки стабільних та радіоактивних компонентів цих тріад. Першим із фактів, що нас насторожили, було те, що в ряді праць було зафіксоване накопичення у трофічних ланцюгах як тритію, так і ${}^{14}\text{C}$ [6]. Ці факти аж ніяк не узгоджувалися з поведінкою стабільних ізотопів у трофічних ланцюгах. Дійсно ніким не було виявлено накопичення дейтерію або ${}^{13}\text{C}$ у харчових ланцюгах. Літературних даних про різну поведінку ізотопів Н і С у їх тріадах (Н–D–T та ${}^{12}\text{C}$ – ${}^{13}\text{C}$ – ${}^{14}\text{C}$) в біосистемах, і, тим більше наукового пояснення цієї відмінності нами не було знайдено. Більшість досліджень обмежуються вивченням або стабільних, або радіоактивних складових без співставлення

особливостей їх поведінки. Передусім наші дослідження стосуються вивчення поведінки природних концентрацій ізотопів у біологічних системах. У той самий час у практиці медичних та біологічних досліджень широко застосовується метод мічених атомів, в якому використовують як стабільні, так і радіоактивні ізотопи. Даний метод дозволяє прослідкувати механізми послідовних біохімічних процесів в організмі шляхом спостереження за долею міченого ізотопу у продуктах метаболізму, біологічних рідинах і тканинах. Однак уведення мічених атомів без чіткого розуміння особливостей їх поведінки у біологічних системах може привести до неправильної інтерпретації отриманих результатів. Раніше було показано, що ізотопне зрушення δD у тканинах, біологічних рідинах та продуктах метаболізму людини близьке до рівноваги з зовнішнім середовищем та відсутнє концентрування D у трофічних ланцюгах [7]. Існує баланс розподілення ізотопів водню в організмі, обважнення води біологічних рідин компенсується полегшенням ліпідів. Дослідження поведінки тритію (T) виявляють протилежну тенденцію до його накопичення у трофічних ланцюгах, більше того відмічається найбільше накопичення T у ліпідній фракції рослин. З метою виявлення відмінностей у поведінці тріади ізотопів H–D–T нами були проведені дослідження з вимірювання їх вмісту у водопровідній воді, урині та рідині видихуваного повітря людини. З таблиці 3 видно, що активність споживаної води і вологи видихуваного повітря відповідно вища, ніж активність продуктів метаболізму людини, що свідчить про різну поведінку D та T в організмі людини (похибка вимірювання складає: $\delta D - \pm 4\%$; $\delta^{13}C - \pm 0,5\%$; активності (A): T – 5%, $^{14}C - 0,6\%$). Очевидно тритій, на відміну від дейтерію, концентрується у молекулярних структурах організму, що й призводить до його накопичення у трофічних ланцюгах. Для тріади водню встановлені відмінності у поведінці в біосистемі як дейтерію, так і тритію. Протилежна поведінка компонентів плеяди ізотопів водню в біологічних системах може бути пов'язана, на нашу думку, як з наявністю дипольних моментів молекул H_2O , HDO та HTO, так і з різними магнітними властивостями ядер ізотопів водню.

Таблиця 3

Вміст ізотопів водню у досліджуваних об'єктах

Проба	$\delta D, \text{‰}$	Активність T, Бк \times дм $^{-3}$
Водопровідна вода	-74	14,5
Волога повітря	-79	12,7
Волога видоху	-121	8,5
Урина	-58	10,8

У випадку вуглецю було виявлене очікуване зменшення значень $\delta^{13}C$ у ліпідних фракціях біосистем. Що стосується радіовуглецю ($\delta^{14}C$), значення його фракціонування у біосистемах повинно було б досягати значних величин (у порівнянні з $\delta^{13}C$), у відповідності з мас-залежним ізотопним ефектом, ніж отримано на

практиці. Однак літературні дані свідчать про наявність концентрування ^{14}C , як і у випадку з T, у трофічних ланцюгах рослин, тварин і людини по відношенню до його вмісту у приземному повітрі. У рослинах (зелена трава, пшениця) вміст ^{14}C більш ніж у два рази перевищує його

вміст у приземному повітрі за відсутності якого-небудь концентрування ^{13}C у трофічних ланцюгах. Однак існують літературні дані, які свідчать про те, що відбувається концентрування ^{14}C у трофічних ланцюгах рослин, тварини та людини по відношенню до його вмісту у приземному повітрі. Відмічені дані, в яких вміст ^{14}C у рослинах (зелена трава, пшениця) перевищують вміст ^{14}C у приземному повітрі у два рази. Наші дані з ізотопного складу $\delta^{13}\text{C}$ вказують на відсутність якого-небудь концентрування ^{13}C у трофічних ланцюгах.

Як видно з даних табл. 4, відбувається зниження концентрації ^{13}C у досліджуваних об'єктах в порівнянні з атмосферним повітрям (-7%). Факт накопичення ^{14}C у харчових ланцюгах скоріше за все вказує на різну поведінку ^{13}C та ^{14}C .

Встановлені відмінності у поведінці стабільних та радіоактивних ізотопів ймовірно пов'язані або з парністю ядер, або з наднизькою концентрацією радіоактивних ізотопів, що обумовлює необхідність більш строгого підходу до моделювання процесів фракціонування ізотопів різної парності одного й того ж хімічного елементу. Дані, отримані для ізотопів однієї парності, можуть виявитися не репрезентативними для ізотопів іншої парності.

Наші дослідження передусім стосуються вивчення варіацій природних концентрацій внутрішньомолекулярних ізотопів у біологічних рідинах, тканинах та продуктах. Ізотопні зміни можуть слугувати потенційним джерелом

Таблиця 4

Вміст ізотопів вуглецю у досліджуваних об'єктах

Проба	$\delta^{13}\text{C}, \text{‰}$	$A^{14}\text{C}, \text{Бк}\times\text{г}^{-1}$
М'ясо	-22,9	0,239
Шкіра	-21,5	0,239
Шерсть	-22,5	0,238
Сало	-26,0	0,241
Білок яйця (раціон змішаний)	-19,6	0,236
Жовток (раціон змішаний)	-22,4	0,241
Шкаралупа яйця (раціон змішаний)	-3,9	0,246
Білок яйця (раціон: C_4 рослини, кукурудза)	-14,1	0,242
Жовток (раціон: C_4 рослини, кукурудза)	-17,2	0,241
Шкаралупа (раціон: C_4 рослини, кукурудза)	+0,5	0,247

інформації відносно метаболічних процесів, що відбуваються в організмі людини як у нормальному, так і у патологічному станах. У практиці медичних та біологічних досліджень широко застосовується метод ізотопних індикаторів (мічених атомів), в якому використовуються як стабільні, так і радіоактивні ізотопи. Даний метод дозволяє прослідкувати механізми послідовних біохімічних перетворень в організмі шляхом спостереження за поведінкою міченого атома у продуктах метаболізму, біологічних рідинах та тканинах. Однак уведення мічених атомів того або іншого хімічного елементу, що не співпадає за парністю з аналогічними атомами в організмі, без чіткого розуміння особливостей їх поведінки у тих або інших біосистемах може призвести до неправильної інтерпретації отриманих результатів і, відповідно, до хибної діагностики.

Вже 60 років як відомо про існування спіну ядра та його магнітного моменту, і 30 років

про ядерно-спінові ефекти у хімічних реакціях (для радикальних, або іон-радикальних). Такі ефекти вивчали переважно за допомогою зовнішнього джерела магнітного поля високої напруженості. Магнітне поле стимулює спінову конверсію з синглетного стану до триплетного, енергетичного стану, в якому заборонене обернене перенесення електрону. У результаті воно впливає на швидкість хімічних перетворень та на їх результат. Подібного ефекту можна досягти також без зовнішнього магнітного поля, але з магнітними ядрами атомів, які у цьому випадку самі є джерелами магнітного поля. В ході реакції відбувається сортування на магнітні та немагнітні ядра, в результаті чого здійснюється фракціонування ізоотопів між вихідними реагентами та продуктами реакції. Існування магнітного ізоотопного ефекту вже було доведено для ізоотопів таких елементів як Н, С, О, Mg, Si, S, Ge, Sn, Hg. Магнітний ізоотопний ефект для усіх наведених вище елементів був показаний в лабораторних умовах. Достовірного підтвердження його впливу на спостережні варіації ізоотопів у кісних природних об'єктах немає.

Не дивлячись на проведення багатьох тисяч аналізів ізоотопних ефектів найбільш вивчених вуглецю та кисню, у різних природних об'єктах існують труднощі розділення кінетичного та магнітного ефектів. Вони полягають у тому, що в обмінному резервуарі – біосфері, кінетичне відставання ^{13}C компенсується його здатністю вступати у хімічні реакції за рахунок магнітних властивостей. Більш того, поведінка ^{13}C піддається впливу магнітного поля Землі. Та й сама Земля є певний соленоїд, котрий повинен сортувати ізотопи. Та й самі магнітні полюси змінюють своє розташування, аж до «переполюсовки». Не виключена можливість того, що спостережний широкий діапазон $\delta^{13}\text{C}$ у біогенних карбонатах можна спробувати пояснити шляхом включення до розгляду, окрім кінетичного, також магнітного механізму утворення цих об'єктів. Можливо вдасться наблизитися до вирішення цього питання, якщо більш ретельно вивчити такі тріади ізоотопів, як Н–D–T, ^{12}C – ^{13}C – ^{14}C , ^{16}O – ^{17}O – ^{18}O , ^{24}Mg – ^{25}Mg – ^{26}Mg .

Для успішного використання ізоотопів у господарській діяльності людини завжди важливо мати правильне уявлення як про їх природні властивості, так і про відмінності у властивостях сполук різного ізоотопного складу. Це тим більш істотно при дослідженні складних біологічних систем.

Усі живі організми від бактерій до людини, а також їх біохімічні системи характеризуються як мінімум двома стабільними ізоотопними параметрами:

- Певним ізоотопним складом, який можна назвати «ізоотопною картою» організму, біосистеми тощо. Причому цей параметр, так само як і елементний склад організму, чітко прив'язаний до навколишнього середовища і є взаємопов'язаним та взаємовпливаючим.

- Наявність чітких взаємовідношень між стабільними та природними радіоактивними ізотопами тих біогенних елементів, що приймають участь у життєдіяльності живих організмів.

Стабільні та природні радіоактивні ізотопи відіграють основоположну роль як у фізичних і хімічних властивостях самого елемента, так і у всіх природних процесах у цілому. На сьогодні розуміння про ізотопи як атоми того або іншого хімічного елемента, ядра яких розрізняються за масовими числами, доповнилося ще й відмінностями у їх квантових характеристиках. Відповідно класичні кінетичні ізотопні ефекти, пов'язані з масою ядер, доповнилися ефектами, які засновані на відмінності їх магнітних моментів. Саме з цими двома принципово відмінними властивостями атомів одних і тих самих хімічних елементів пов'язані усі процеси ізотопного фракціонування, в тому числі внутрішньомолекулярного фракціонування ізотопів у живих організмах. Відмінності у фундаментальних властивостях ядер можуть впливати як на швидкість хімічних реакцій, так і на енергетичний стан і ядерний магнетизм реагуючих систем. Ці положення є подальшим розвитком ідеї В.І. Вернадського про те, що існує розділення ізотопів, пов'язане з явищами, в яких хімічна спорідненість не погашує прояву фізичних сил.

Експериментальні дослідження, які проводяться в Інституті геохімії навколишнього середовища НАН України, сприяли розвитку в Інституті нового для нього напрямку досліджень – ядерної хімії, заснованої як на вивченні фундаментальних властивостей ядер ізотопів різної парності, так і на особливостях їх поведінки у живих та неживих системах природи. Цей напрямок стає актуальним для вирішення проблем ядерно-паливного комплексу у зв'язку зі щорічним збільшенням тритієвих та радіоуглецевих викидів, головним чином за рахунок антропогенних факторів. Для медико-біологічних проблем подібні дослідження можуть дати нові знання про механізми метаболічних перетворень, що протікають в живих організмах. В області радіології внутрішньомолекулярні природні ізотопні співвідношення органогенних та деяких біогенних елементів можуть слугувати джерелами інформації про фізіологічний стан організму, що може бути використане з метою діагностики.

Сучасний рівень розвитку біологічних наук та наук про Землю, про живу речовину сформував єдиний потужний комплекс наук про різноманітні прояви життя та його багатоманіття. Трансформація ідей В.І. Вернадського, який на початку ХХ століття заклав основи їх взаємозалежності, створюють платформу для нових ідей, понять та нових напрямків наук як на даний момент часу, так і у майбутньому.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бгатов А. В.* Биогенная классификация химических элементов // Философия науки. 1999. № 2. Электронный ресурс: 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. *Вернадский В. И.* О влиянии живых организмов на изотопические смеси химических элементов // Док. АН СССР. 1931. № 6. С. 141–147.
4. *Волькенштейн М. В.* Структура и физические свойства молекул. М.: Изд-во АН СССР, 1955. 639 с.
5. *Галимов Э. М.* Природа биологического фракционирования изотопов. М.: Наука, 1981. 247 с.
6. *Демин С. Н.* Проблема углерода-14 в районе ПО «Маяк» // Вопросы радиационной безопасности. 2000. № 1. С. 61–66.
7. *Деміхов Ю. Н.* Распределение изотопов водорода в организме человека // Доп. НАН України. 2005. № 11. С. 165–169.
8. *Ивлев А. А.* Связь изотопного состава углерода волос человека с его функциональным состоянием // Биофизика. 1992. Т. 37. Вып. 6. С. 1086–1089.
9. *Ивлев А. А., Гончаров Н. П.* Изотопный состав углерода плазмы крови у пациентов с заболеваниями эндокринной системы // Пробл. эндокринол. 1993. Вып. 39. С. 36–40.
10. *Ивлев А. А., Князев Ю. А., Логачев М. Ф.* Среднесуточные значения изотопного состава углерода CO₂ выдыхаемого воздуха и мочевины мочи у человека в норме и при некоторых эндокринных патологиях // Биофизика. 1996. Т. 41. Вып. 2. С. 502–507.
11. *Ивлев А. А., Князев Ю. А., Логачев М. Ф.* Короткопериодические колебания изотопного состава углерода CO₂ выдыхаемого воздуха в различных функциональных состояниях человека // Биофизика. 1996. Т. 41. Вып. 2. С. 508–516.
12. *Ивлев А. А., Пантелеев Н. Ю., Князев Ю. А.* и др. Суточные изменения изотопного состава углерода CO₂ выдыхаемого воздуха у человека при некоторых нарушениях метаболизма // Биофизика, 1994. Т. 39. Вып. 2. С. 393–398.
13. *Ленинджер А. Л.* Биохимия. М.: Мир, 1976. 957 с.;
14. *Перельман А. И.* Геохимия. М.: Высш. школа, 1979. 423 с.
15. *Привалов П. Л.* К проблеме о роли воды в биологических системах // Биофизика. 1958. Vol. 3. С. 738–743.
16. *Рогинский С. З., Шноль С. Э.* Изотопы в биохимии. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 379 с.
17. *Скульский Н. А., Лысенко О. Б., Деміхов Ю. Н., Соботович Э. В.* Различия в поведении

- стабільних и радиоактивных изотопов водорода и углерода в биосистемах // Тез. докл. XIX симпоз. по геохимии изотопов им. акад. Виноградова, 16–18 ноября 2010 г. М.: Акварель, 2010. С. 359–360.
18. *Соботович Э. В., Лысенко О. Б.* Изотопный сдвиг элементов в биологических процессах // Доп. НАН України. 2001. № 4. С. 114–119.
 19. *Соботович Э. В., Лысенко О. Б.* Изотопный сдвиг элементов в тканях растений как возможный индикатор биологической активности организма и фитопатологий // Зб. наук. праць ДНЦ РНС НАН та МНС України. 2000. Вип. 1. С. 164–179.
 20. *Соботович Э. В., Лысенко О. Б., Шатило В. Б.* Изотопный сдвиг углерода в крови человека как возможный индикатор его функциональной активности // Радиация и Чернобыль: ближайшие и отдаленные последствия / под ред. Е.Ф. Конопки. Гомель: Ин-т радиологии, 2007. С. 130–135.
 21. *Эмсли Дж.* Элементы. М.: Мир, 1993. 256 с.
 22. *Abelson P. H., Hoering T. C.* Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1961. Vol. 47. N 5. P. 623–632.
 23. *Barbour H. G., Allen E.* Tumor growth in mice one-fifth saturated with deuterium oxide // Am. J. Cancer. 1938. Vol. 32. P. 440–446.
 24. *Black J. R., Epstein E., Rains W. D. et al.* Magnesium-isotope fractionation during plant growth // Environmental Science and Technol. 2008. Vol. 42. P. 7831–7836.
 25. *Borek E., Rittenberg D.* Anomalous growth of microorganisms produced by changes in isotopes in their environment // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1960. Vol. 46. P. 777–782.
 26. *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. Vol. 15. P. 1252–1262.
 27. *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.
 28. *Demidov V.V.* Heavy isotopes to avert ageing? // Trends in Biotechnol. 2007. Vol. 25. N 9. P. 371–375.
 29. *De Niro M.J., Epstein S.* Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals // Geochim. et Cosmochim. Acta. 1978. Vol. 42. P. 495–506.
 30. *De Niro M.J., Epstein S.* Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis // Sci. 1977. Vol. 197. P. 261–263.
 31. *Douzou P., Franco J.C., Polonsky J., Sadron C.* Sur les propriétés électriques du sel de sodium de l'acide désoxyribonucléique // C. R. Hebd Seances Acad. Sci. 1960. Vol. 251. P.

976–978.

32. *Ehleringer J. R., Bowen G. J., Chesson L. A.* et al. Hydrogen and oxygen isotope ratios in human hair are related to geography // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008. Vol. 105. P. 2788–2793.
33. *Finkel A. J., Czajke D. M.* The effect of deuterium oxide on ascites tumor growth in mice // *Deuterium isotope effects in chemistry and biology* / Ed. F. N. Furness. New York: New York Acad. Sci., 1960. P. 755–762.
34. *Fraser I., Meier-Augenstein W., Kalin R. M.* The role of stable isotopes in human identification: a longitudinal study into the variability of isotopic signals in human hair and nails // *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 2010. Vol. 20. P. 1109–1116.
35. *Fuller B. T., Fuller J. L., Sage N. E.* et al. Nitrogen balance and ^{15}N : why you're not what you eat during nutritional stress? // *Rapid Communicat. in Mass Spectrometry.* 2005. Vol. 19. P. 2497–2506.
36. *Hartmann J., Bader Y., Horvath Z.* et al. Effects of heavy water (D_2O) on human pancreatic tumor cells // *Anticancer Res.* 2005. Vol. 25. P. 3407–3411.
37. *Hughes A. M., Tolbert B. M., Lonberg-Holm K., Calvin M.* The effect of deuterium oxide on survival of mice with ascites tumor // *Bioch. Bioph. Acta.* 1958. Vol. 28. P. 58–61.
38. *Ivlev A. A.* Carbon isotope effects ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in biological systems // *Separat. Sci. Technol.* 2001. Vol. 36. P. 1819–1914.
39. *Katz J. J.* The biology of heavy water. What happens to experimental organisms that have been raised on water in which the hydrogen is not the common isotope of mass one but the heavy isotope of mass two? // *Sci. Amer.* 1960. Vol. 203. P. 106–116.
40. *Katz J. J., Crespi H. L.* Deuterated organisms: cultivation and uses // *Sci.* 1966. Vol. 151. P. 1187–1194.
41. *Krempels K., Somlyai I., Somlyai G.* A retrospective evaluation of the effects of deuterium depleted water consumption on 4 patients with brain metastases from lung cancer // *Integrat. Cancer Therap.* 2008. Vol. 7. P. 172–181.
42. *Lasnitzki A., Brewer A.K.* An isotopic shift of potassium in human bone-marrow and cancer // *Nature.* 1938. Vol. 149. No. 3778. P. 357–358.
43. *Lewis G. N.* The biology of heavy water // *Sci.* 1934. Vol. 79. P. 151–153.
44. *Lyon T. D. B., Baxter M. S.* Stable carbon isotopes in human tissues // *Nature.* 1978. Vol. 273. P. 750–751.
45. *Maréchal C. N., Télouk P., Albarède F.* Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry // *Chemical Geology.* 1999. Vol. 156. P. 251–273.
46. *Metges C. C., Petzke K. J.* Measurement of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic composition in individual plasma

- free amino acids of human adults at natural abundance by gas chromatography–combustion isotope ratio mass spectrometry // *Analyt. Biochem.* 1997. Vol. 247. P. 158–164.
47. *O'Connell, T. C., Hedges R. E. M., Healey M. A., Simpson A. H. R. W.* Isotopic comparison of hair, nail and bone: modern analyses // *J. Archaeological Sci.* 2001. Vol. 28. P. 1247–1255.
48. *Ohno T., Shinohara A., Kohge I. et al.* Isotopic analysis of Fe in human red blood cells by multiple collector-ICP-mass spectrometry // *Analytical Sciences.* 2004. Vol. 20. P. 617–621.
49. *Ohno T., Shinohara A., Kohge I. et al.* Precise Zn isotopic ratio measurements of human red blood cell and hair samples by multiple collector-ICP-mass spectrometry // *Analytical Sci.* 2005. Vol. 21. P. 425–428.
50. *Petzke K. J., Boeing H., Klaus S., Metges C. C.* Carbon and nitrogen stable isotopic composition of hair protein and amino acids can be used as biomarkers for animal-derived dietary protein intake in humans // *J. Nutrit.* 2005. Vol. 135. P. 1515–1520.
51. *Polonsky J., Douzou P., Sadron C.* Mise en évidence de propriétés ferroélectriques dans l'acide desoxyribonucleique (DNA) // *C. R. Hebd Seances Acad. Sci.* 1960. Vol. 250. P. 3414–3416.
52. *Schidlowski M., Hayes J. M., Kaplan I. R.* Isotopic inferences of ancient biochemistries: carbon, sulfur, hydrogen and nitrogen // *Earth's earliest biosphere: its origin and evolution.* – Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1983. P. 149–186.
53. *Shchepinov M. S.* Reactive oxygen species, isotope effect, essential nutrients, and enhanced longevity // *Rejuvenat. Res.* 2007. Vol. 10. P. 47–60.
54. *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.
55. *Stenberg A., Malinovsky D., Öhlander B. et al.* Measurement of iron and zinc isotopes in human whole blood: preliminary application to the study of HFE genotypes // *J. Trace Elements in Med. and Biol.* 2005. Vol. 19. P. 55–60.
56. *Stone N. J.* Table of nuclear magnetic dipole and electric quadrupole moments // *Atomic Data and Nuclear Data Tables.* 2005. Vol. 90. P. 75–176.
57. *Turro N. J., Chow M.-F., Chung C.-J., Tung C.-H.* Magnetic field and magnetic isotope effects on photoinduced emulsion polymerization // *J. Am. Chem. Soc.* 1983. Vol. 105. P. 1572–1577.
58. *Urey H. C.* The separation and properties of the isotopes of hydrogen // *Sci.* 1933. Vol. 78. P. 556–571.
59. *Walczyk T., von Blanckenburg F.* Deciphering the iron isotope message of the human body // *Int. J. Mass Spectrometry.* 2005. Vol. 242. P. 117–134.

60. Walczyk T., von Blanckenburg F. Natural iron isotope variations in human blood // Sci. 2002. Vol. 295. P. 2065–2066.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.14

доопрацьована 23.09.14

прийнята до друку 24.09.14

BIOGENIC CHEMICAL ELEMENTS ISOTOPIC RATIOS IN LIVING ORGANISM AS A NEW POTENTIAL INDICATOR OF PHYSIOLOGICAL STATE

E. Sobotovich, O. Lysenko, Yu. Demihov, N. Skulskyi, M. Lysenko, T. Koshliakova

PO «Environment geochemistry institute of National Academy of Sciences of Ukraine»

Palladina Avenue, 34a, Kyiv 03680, Ukraine

e-mail: lysenko.ob@gmail.com

The theoretical questions about role of intramolecular isotope ratios in living organisms functioning, especially human being, are considered. Special attention is given to isotop fractioning of carbon in human body as the most studied. The aim of this investigation is to reveal and to study the strategical connection between features of metabolic transformation in human body, its functional status and intramolecular isotope ratios, peculiar to this organism. The own experimental results carried out together with Gerontology Institute, Hematology Institute and Radiation Medicine Scientific Center are presented. The relation between intramolecular isotope ratios values of human body separate tissues and human organism functional status is observed.

Keywords: organogenic element, intramolecular isotope ratios, isotops fractioning, pyruvate, metabolism.

ИЗОТОПНЫЕ СООТНОШЕНИЯ БИОГЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ЖИВОМ ОРГАНИЗМЕ КАК НОВЫЙ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИНДИКАТОР ЕГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Э. Соботович, О. Лысенко, Ю. Деміхов, Н. Скульский, М. Лысенко, Т. Кошлякова

ГУ «Институт геохимии окружающей среды НАН Украины»

пр. Палладина, 34а, Киев 03680, Украина

e-mail: lysenko.ob@gmail.com

Рассмотрены теоретические вопросы, которые касаются роли внутримолекулярных соотношений изотопов в функционировании живых организмов, в частности человека. Особое внимание уделено изотопному фракционированию углерода в организме человека,

как наиболее изученного. Целью данной работы является выявление и изучение стратегической связи между особенностями метаболических превращений в организме человека, его функциональным состоянием и присущими этому организму внутримолекулярными изотопными соотношениями. Представлены собственные экспериментальные исследования, проведенные совместно с Институтом геронтологии, Институтом гематологии и Научным центром радиационной медицины АМН Украины по этой проблеме. Наблюдается зависимость между значениями внутримолекулярных изотопных соотношений отдельных тканей человека и функциональным состоянием организма человека.

Ключевые слова: органогенные элементы, внутримолекулярные соотношения изотопов, фракционирование изотопов, пируват, метаболизм.