

**Соботович Э.В., Лысенко О.Б., Демихов Ю.Н., Скульский Н.А.**  
ГУ «Институт геохимии окружающей среды НАН Украины»

## **ГЕОХИМИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ НЕКОТОРЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОСФЕРЕ**

*Изучены особенности изотопного фракционирования H, C, Mg, Fe, Zn в живых организмах, включая человека. Установлены: фазовый изотопный эффект в системе «выдыхаемый воздух – кровь»; вариации изотопов основных биогенных химических элементов в пределах одной биологической системы; особенности поведения четных и нечетных стабильных и радиоактивных изотопов химических элементов. Показано, что изотопы являются перспективными источниками информации о физиологическом состоянии организма человека, что может быть использовано в диагностических целях.*

### **Введение**

Эволюционное развитие любого живого организма зависит от состояния окружающей среды, т.е. от комплекса абиотических и биотических экологических факторов, которые преобладают в ней в то или иное время.

Современный человек, по сравнению с любыми другими живыми системами, обладает наивысшими адаптационными возможностями относительно окружающей среды, поскольку он научился создавать для себя локальные комфортные условия своего существования. Здоровье человека в значительной степени зависит от эндогенных факторов окружающей среды, превышающих способность адаптации организма к ним.

Природа и общество – это не хаотические наборы живых и неживых компонентов. Они структурированы в виде определенных систем и подсистем строгой иерархии. При этом существует немало форм классификаций разнообразных природных, искусственных и социальных систем в зависимости от того, какие критерии взяты за основу.

Как известно, человечество находится под постоянным влиянием геосферы. Причем, влияние современной цивилизации на окружающую среду достигло того уровня, о котором В.И. Вернадский писал: «Ноосфера есть новое геологическое явление на нашей планете. В ней человек становится крупномасштабной геологической силой» [1]. И современный уровень достижений в ядерной и космической сфере, в генной- и ДНК-инженерии расширил и укрепил иллюзию человека о своих возможностях.

Нельзя отрицать существование влияния многих биологических и биотропных факторов, часть из которых очевидна и хорошо изучена. Однако существует огромное количество других геогенных факторов биотропного влияния, которые либо мало изучены, либо вообще остались вне сферы изучения их человеком. Среди них можно выделить геомагнитную активность, магнитные аномалии, естественное фоновое излучение, изотопное фракционирование, миграцию жидкостей и эмиссию газов в зонах разломов, едва различимые сейсмические явления, которые вызывают локальные изменения геохимических и геофизических параметров, цикличность тектонических и климатических процессов, геоэлектричество, геопатогенные зоны и другие.

Известно, что многие закономерности распространенности изотопов в природе контролируются процессами, происходящими в биосфере. Поэтому биохимические исследования все чаще стали включать в себя подробное изучение изотопного состава геологических объектов. В результате значительная часть экспериментальных данных, касающихся изотопного состава биосистем, была получена в ходе геохимических исследований. Этим, вероятно, объясняется внимание геохимиков, интересующихся ролью живого вещества в природе, к процессам биологического фракционирования изотопов.

**Химический состав живых организмов**

«Геохимия – наука двадцатого столетия. Она могла возникнуть лишь после появления современного научного представления об атомах и химических элементах, но корни ее идут глубоко в прошлое науки» [2].

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 [3]. При этом возникают два вопроса:

- 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 периодической 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 изменяющейся геохимической среде обитания, поможет грамотно ориентироваться в настоящем и решать актуальные проблемы медицины, экологии и сопряженные с ними проблемы.

Организмы способны избирательно поглощать и накапливать некоторые элементы из окружающей среды. В первую очередь это касается легких химических элементов, поскольку содержание химических элементов в организмах с ростом атомной массы элемента чаще всего уменьшается. Однако присутствие некоторых химических элементов (в количестве даже нескольких атомов на клетку) оказывает значимое влияние на процессы внутриклеточного метаболизма. С этих позиций были предприняты попытки создать классификацию так называемых «жизненно необходимых» химических элементов, недостаток или избыток которых угнетает жизнедеятельность организма.

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 (табл. 1). К четырем органогенным элементам (O, C, H, N) добавляются P, S, Na, K, Mg, Ca, Cl, Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Se, Mo, I, Co [4].

**Таблица 1.** Средний состав жизненно необходимых элементов в живом веществе

Элемент	Содержание в организмах [3], моль/т		Изотопы	Средняя распространенность [5], %	Спин I, h	Ядерные характеристики [6]	
	Наземные растения	Наземные животные				Магнитный момент $\mu, \mu_n$	Q, фм <sup>2</sup>
1	2	3	4	5	6	7	8
<sup>1</sup> H	55 000	70 000	<sup>1</sup> H	99,99	1/2	+2,79284734	+0,0028
			<sup>2</sup> H	0,01	1	+0,857438228	
<sup>6</sup> C	37 833	38 750	<sup>12</sup> C	98,93	0	+0,7024118	+1,56
			<sup>13</sup> C	1,07	1/2	+0,40376100	
<sup>7</sup> N	2143	7143	<sup>14</sup> N	99,64	1	—0,28318884	—2,6(3)
			<sup>15</sup> N	0,36	1/2	+2,217520(2)	
<sup>8</sup> O	25 625	11 625	<sup>16</sup> O	99,76	0	+10,1(8)	
			<sup>17</sup> O	0,04	5/2		
<sup>11</sup> Na	52	174	<sup>18</sup> O	0,20	0		
			<sup>23</sup> Na	100	3/2		

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
			<sup>24</sup> Mg	78,99	0		
<sup>12</sup> Mg	132	41	<sup>25</sup> Mg	10,00	5/2	—0,85545	+22
			<sup>26</sup> Mg	11,01	0		
<sup>15</sup> P	74	548—1420	<sup>31</sup> P	100	1/2	+1,13160	
			<sup>32</sup> S	94,99	0		0
<sup>16</sup> S	106	156	<sup>33</sup> S	0,75	3/2	+0,6438212	—6,4(10)
			<sup>34</sup> S	4,25	0		0
			<sup>35</sup> S	0,01	3/2	+1,00	+0,0471
<sup>17</sup> Cl	57	79	<sup>35</sup> Cl	75,77	3/2	+0,8218736(5)	8,249(2)
			<sup>37</sup> Cl	24,23	3/2	+0,6841230(5)	6,493(2)
<sup>19</sup> K	360	190	<sup>39</sup> K	93,26	3/2	+0,39147	+4,9(4)
			<sup>41</sup> K	6,73	3/2	+0,2148701	+6,0(5)
			<sup>40</sup> Ca	96,94	0		
			<sup>42</sup> Ca	0,64	0		
<sup>20</sup> Ca	450	5—212,5	<sup>43</sup> Ca	0,13	7/2	—1,31726(60)	<23
			<sup>44</sup> Ca	2,08	0		
			<sup>46</sup> Ca	4*10 <sup>-3</sup>	0		
			<sup>48</sup> Ca	0,18	0		
			<sup>50</sup> Cr	4,35	0		
<sup>24</sup> Cr	0,0044	0,0014	<sup>52</sup> Cr	83,79	0		
			<sup>53</sup> Cr	9,50	3/2	—0,47454(3)	2,2
			<sup>54</sup> Cr	2,36	0		
<sup>25</sup> Mn	11,45	0,004	<sup>55</sup> Mn	100	5/2	+3,468716(2)	+35(5)
			<sup>54</sup> Fe	5,85	0		
<sup>26</sup> Fe	2,5	2,9	<sup>56</sup> Fe	91,75	0		
			<sup>57</sup> Fe	2,12	1/2	+0,09044(7)	
			<sup>58</sup> Fe	0,28	0		
<sup>27</sup> Co	0,008	0,0005	<sup>59</sup> Co	100	7/2	+4,627(9)	+40,4(40)
<sup>29</sup> Cu	0,22	0,04	<sup>63</sup> Cu	69,15	3/2	+2,227206	—20,9(3)
			<sup>65</sup> Cu	30,85	3/2	+2,3816	19,5(4)
			<sup>64</sup> Zn	48,27	0		
			<sup>66</sup> Zn	27,98	0		
<sup>30</sup> Zn	1,53	2,45	<sup>67</sup> Zn	4,10	5/2	+0,8752049	+15,0(15)
			<sup>68</sup> Zn	19,02	0		
			<sup>70</sup> Zn	0,63	0		
			<sup>74</sup> Se	0,90	0		
			<sup>76</sup> Se	9,20	0		
<sup>34</sup> Se			<sup>77</sup> Se	7,60	1/2	+0,534270(8)	
			<sup>78</sup> Se	23,70	0		
			<sup>80</sup> Se	49,80	0		
			<sup>82</sup> Se	8,80	0		
			<sup>92</sup> Mo	14,84	0		
			<sup>94</sup> Mo	9,25	0		
<sup>42</sup> Mo			<sup>95</sup> Mo	15,92	5/2	—0,9142(1)	—1,9(12)
			<sup>96</sup> Mo	16,68	0		
			<sup>97</sup> Mo	9,55	5/2	—0,9335(1)	—10,2(39)
			<sup>98</sup> Mo	24,13	0		
			<sup>100</sup> Mo	9,63	0		
<sup>53</sup> I			<sup>127</sup> I	100	5/2	+2,81327	—78,9

Примечание: Q – Электрический и квадрупольный момент

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 по-

прежнему дискуссионным.

### Стабильные изотопы элементов

Сфера использования человеком созданных природой изотопов 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 измерения как методы для изучения важных и ранее неразрешимых проблем [7].

Стабильные изотопы позволяют решать те же задачи, что и радиоактивные, причем без искажения результатов под влиянием облучения. Большая сложность измерений компенсируется повышенной надежностью результатов. Можно надеяться, что развитие измерительной техники и большая доступность аппаратуры в дальнейшем будут способствовать замене во многих исследованиях радиоактивных изотопов стабильными. В то же время повышение чувствительности радиометрических методов позволит уменьшать дозы применяемых изотопов и тем самым и отклонения от индикаторности, вызванные радиацией.

В итоге 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, что дает возможность описывать углеродный и азотный стресс при голодании диких животных, изучать влияния эндогенных и экзогенных факторов окружающей среды на диетическое фракционирование изотопов С, N в живых организмах, прогнозировать географический регион происхождения людей и рацион их питания;

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

Использование «внутренней метки» все чаще находит применение для определения и объяснения процессов, протекающих в живых организмах, в частности у человека. Целью использования «внутренней метки» является изучение последовательности биохимических превращений, определение конкурирующих параллельных реакций и измерение скорости образования промежуточных продуктов.

В мировой практике для измерения изменений изотопного состава принята  $\delta$ -система, в которой содержание изотопа выражается через изотопный состав некоторого стандарта и измеряется в промилле (‰). Так, для углерода  $^{13}\text{C}$ :

$$\delta^{13}\text{C}, \text{‰} = [(R_{\text{обр.}}/R_{\text{станд.}}) - 1] \times 10^3, \quad (1)$$

где  $R_{\text{обр.}} = (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{обр.}}$ , т.е. выражает относительное содержание тяжелого и легкого изотопа в образце;  $R_{\text{станд.}}$  – такое же отношение для стандарта.

Иначе говоря, при измерении изотопов используют не абсолютные величины их отношений, а относительные отклонения от изотопного состава стандартного образца. Положительные значения  $\delta^{13}\text{C}$  указывают на увеличенное содержание тяжелого изотопа углерода в образце относительно стандарта, а отрицательные значения – на снижение содержания в образце тяжелого изотопа по сравнению со стандартом.

### Природные изотопные эффекты

Для успешного применения изотопов всегда важно иметь представления о свойствах и различиях не только самих изотопов, но и одних и тех же соединений разного изотопного состава. Это крайне необходимо для анализа химических реакций, особенно для анализа сложных биологических проблем. Известно, что физические и физико-химические

свойства веществ в случае изменения изотопного состава тем больше, чем меньше номер химического элемента (при одной и той же разнице в атомных номерах элементов).

«Вследствие различий в физико-химических свойствах изотопных молекул их химические и физические превращения обычно сопровождаются фракционированием изотопов, т.е. распределением их между двумя фракциями вещества с разными изотопными отношениями» [8]. Или, другими словами, фракционирование изотопов состоит в том, что относительное содержание одного из изотопов в данном соединении увеличивается за счет снижения его содержания в другом, т.е. фракционирование изотопов является следствием их физико-химической неравноценности, что может сказываться на скоростях процессов, энергетическом состоянии и ядерном магнетизме системы.

Процессы фракционирования изотопов (их разделение между двумя фракциями) в неживом веществе до настоящего времени можно считать достаточно хорошо изученными. Для того, чтобы получить полное объяснение обнаруженным природным изотопным эффектам, авторы сочли целесообразным проанализировать те основные изотопные эффекты, которые индуцируют фракционирование изотопов в биологических системах (табл. 2). Поэтому при описании изотопных элементов авторы останавливались только на тех, которые проявляются в биосистемах.

**Таблица 2.** Классификация изотопных эффектов

Физические свойства. Различия, в которых обуславливается изотопный эффект (И. э.)	Изотопный эффект		
	Тип	Разновидность	Проявление в биосистемах
Масса. И. э. I рода	Инерциальный	Гравитационный	Не обнаружен
		Диффузионный	Обнаружен у фотосинтезирующих растений
		Электромагнитный (разделение изотопных ионов в электрическом и магнитном поле)	Наличие эффекта требует дальнейших исследований
	Корпускулярно-химический	Фазовый	Установлен авторами в системе «выдыхаемый воздух–кровь»
		Адсорбционный	Пока нет сведений
	Химический	Термодинамический	
			Наличие межмолекулярного изотопного эффекта является предметом дискуссии
Кинетический			Хорошо изучен для фотосинтезирующих растений
			Нет сведений
Спин, магнитный момент. И. э. II рода	Ядерно-химический	Фотохимический	Нет сведений
		Туннельный	Нет сведений
		Ядерно-спиновый	Обнаружен в биосистемах

Как видно из таблицы 2, из изотопных эффектов I рода (или масс-зависящих эффектов) в биосистемах, согласно правилу плейд, проявляют свое влияние фазовый и химические (кинетический и термодинамический) изотопные эффекты.

Изотопные эффекты II рода или масс-независимые эффекты, согласно правилу плейд, были обнаружены в радикальных и ион-радикальных химических реакциях. Поскольку

некоторые биохимические процессы в живых организмах протекают также по ион-радикальному механизму, то можно ожидать здесь проявление изотопных эффектов II рода.

**Фазовый изотопный эффект.** Основной вклад в формирование изотопного состава атмосферных осадков, а следовательно и поверхностных вод континентов, вносит фракционирование изотопов при конденсации водяного пара; фракционирование при испарении вносит меньший вклад. Следует отметить, что для атмосферных осадков и поверхностных вод континентов обычно наблюдается корреляционная зависимость между  $\delta D$  и  $\delta^{18}O$ :  $\delta D = a\delta^{18}O + b$  ‰, при  $a = 8$ ,  $b = 10$  зависимость называется прямой Крейга.

При замерзании воды также происходит разделение изотопов водорода и кислорода. Процесс протекает в условиях близких к равновесным и приводит к обогащению льда D и  $^{18}O$  в воде поверхностного слоя примерно на 20 ‰ и 2 ‰, соответственно.

В живых организмах можно было бы ожидать наличие фазового эффекта в системе «выдыхаемый воздух–кровь» на границе пар–жидкость в легких. Такой прогноз был нами подтвержден в результате проведения серии экспериментов по исследованию изотопного состава водорода: выдыхаемой человеком влаги, атмосферной влаги, биологических жидкостей, тканей и продуктов метаболизма человека [9].

**Химический изотопный эффект** состоит из термодинамического и кинетического эффектов.

**Термодинамический изотопный эффект** основан на стремлении системы изотопных молекул к минимуму энергии. Действительно, квантово-статистические расчеты термодинамических состояний системы из двух атомов показывают, что энергия такой системы изменяется при перераспределении изотопов в ней и стремится к минимуму.

Для расчета константы равновесия требуются экспериментальные данные о частотах колебательных спектров, массах и числах симметрии молекул, участвующих в изотопно-обменной реакции. Для пляд изотопов с ростом массы изотопа наблюдается увеличение частот колебаний и, следовательно, увеличение энергии связи в молекуле, т.е. тенденция к накоплению тяжелых изотопов в молекулах с большей энергией связи. Основные частоты колебаний,  $cm^{-1}$ :  $H_2 - 4405,3$ ;  $D_2 - 3118,8$ ;  $T_2 - 2546,5$ .

Таким образом, для изотопов водорода не следует ожидать изменения направления изотопных эффектов на обратное при переходе от дейтерия к тритию.

**Кинетический изотопный эффект (КИЭ)** основан на различии абсолютных скоростей реакций изотопных молекул. В ряде физико-химических процессов, протекающих в неравновесных условиях, разделение изотопов может происходить за счет кинетических факторов. В соответствии с теорией абсолютных скоростей химических реакций в реакциях участвуют не все молекулы, а только те из них, которые достигли энергии активации. При распределении молекул по скоростям согласно закону Максвелла количество молекул  $dN$  имеющих скорость в диапазоне от  $V$  до  $V + \Delta V$  определяется выражением:

$$dN \approx \left( \frac{m}{2KT} \right)^3 \times e^{-\frac{mv^2}{2KT}}, \quad (2)$$

где:  $dN$  – число молекул, скорости которых лежат в интервале скоростей  $\Delta V$ ;  $V$  – нижняя граница интервала скоростей  $\Delta V$ ;  $m$  – масса молекулы;  $K$  – газовая, постоянная;  $T$  – температура.

Доля тяжелых молекул со скоростью  $V$  меньше доли легких молекул, поэтому большая часть легких молекул примет участие в реакции. Таким образом, химический кинетический эффект не может привести к нарушению закономерности фракционирования в триадах изотопов.

Для изотопов водорода (трития, дейтерия и протия) различие в скоростях протекания реакций, в которых участвуют изотопические молекулы, обусловлено как разницей масс молекул, так и изменением энергии активации. Если же обе молекулы тяжелые, то изотопный состав мало влияет на их массы. В этом случае различие в кинетике практически целиком будет связано изменением энергии активации образования активированного ком-

плекса. Но учет скорости протекания реакций, обусловленный разницей масс молекул принципиально результата не изменит.

Следовательно, при химических изотопных эффектах изотопы водорода должны вести себя синхронно и проявлением химических изотопных эффектов нельзя объяснить принципиальное различие в поведении протия, дейтерия и трития в биосистемах.

**Диффузионный изотопный эффект.** В случае фотосинтезирующей фиксации углерода высшими растениями, морскими водорослями и автотрофными бактериями, одним из процессов, ответственным за фракционирование углерода, является диффузия  $\text{CO}_2$  внутрь и наружу из тканей растений. Фракционирование углерода на этом этапе у высших растений характеризуется величиной порядка  $-4\%$ , что вносит существенный вклад в суммарное фракционирование изотопов углерода в растениях  $\text{C}_4$  (среднее значение  $\delta^{13}\text{C}$  около  $-13\%$ , относительно стандарта PDB), в то время как эта стадия оказывает малый вклад на пути фиксации углерода растениями  $\text{C}_3$  (среднее значение  $\delta^{13}\text{C}$  около  $-28$ – $30\%$ , относительно стандарта PDB). Медленная диффузия  $\text{CO}_2$  в воде вносит существенный вклад в процесс формирования  $\delta^{13}\text{C}$  морских и пресноводных водорослей [10].

По аналогии с фотосинтезирующей фиксацией углерода, можно ожидать влияния диффузии на изотопный состав легких элементов и в меж- и внутриклеточных процессах, в том числе и у гетеротрофных организмов. Этот эффект носит кинетический характер и не должен изменить направленность процессов для дейтерия и трития.

**Ядерно-спиновый (магнитный) изотопный эффект (МИЭ).** Некоторые химические реакции, прежде всего радикальные и ион-радикальные, связаны с изменением суммарного электронного спина реагирующей системы или, как говорят, изменением спиновой мультиплетности, например переходом ее из триплетного состояния в синглетное. Энергия, характеризующая этот переход, зависит от взаимодействия спинов электронов и ядер. Вследствие этого вероятность химических реакций оказывается зависящей от наличия ядерного спина и величины его взаимодействия с электронным спином – так называемого сверхтонкого взаимодействия. Поскольку в общем случае изотопы одного элемента могут различаться величиной ядерного спина, скорость реакции для изотопных соединений может оказаться различной, что и предполагает наличие изотопного эффекта.

В отличие от КИЭ величина МИЭ зависит от магнитного поля, температуры, молекулярной и химической динамики, а также спинового состояния реагентов. Магнитный изотопный эффект приводит к фракционированию магнитных и немагнитных изотопов в химических, биохимических, геохимических и космических процессах.

Механизм магнитного изотопного эффекта может реализоваться в химических радикальных реакциях. Как известно, в молекулах электроны спарены и спины электронов скомпенсированы, т.е. суммарный электронный спин равен нулю. Такое состояние называется синглетным (S). При распаде молекулы на радикалы происходит распаривание электронов и последующая рекомбинация радикалов может быть затруднена необходимостью компенсации спинов. Поэтому ядерно-спиновый (магнитный) изотопный эффект и изотопное фракционирование сильно зависят от магнитной, электрон-ядерной энергии, от величины внешнего магнитного поля, от вращательной и трансляционной диффузии партнеров, от вязкости и замкнутости объема, от времени жизни радикалов.

Для пары H/D могут сосуществовать и масс-зависящий и ядерно-спиновый (магнитный) изотопный эффекты, причем они даже соизмеримы. Однако для более тяжелых ядер, начиная с углерода, ядерно-спиновый изотопный эффект на порядок превышает масс-зависимый изотопный эффект.

В классической изотопии (масс-зависимой) все постулаты фракционирования приняты исходя из массы ядер. В ней химически более активны молекулы с легкими ядрами. В магнитной изотопии, как правило, более активны молекулы с магнитными ядрами. Происхождение этих двух изотопий иллюстрирует рисунок 1.



Рис. 1. Схема, иллюстрирующая происхождение изотопных эффектов [7]

**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.

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 [11].

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 организм 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?» [12].

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 [7, 11].

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 [13] было показано, что различие в изотопном фракционировании в различных биосистемах может быть объяснено обменными процессами.

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 [12] 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» [8].

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» [12]. 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 изучению фракционирования изотопов органогенных элементов (C, H, N, O), 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 являются самыми легкими. 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 позиций Н (с учетом внутренних  $-\text{CH}_2-$  как симметричных и имеющих идентичное изотопное соотношение). В живом организме физически разные компартаменты (например, плазма и органы) могут содержать аминокислоты с различным изотопным составом. Белки, синтезированные в отдельных органах, но присутствующие в том же физическом пуле (например, плазме), также могут представлять компартаменты с различными внутримолекулярными изотопными соотношениями, указывающими на их происхождение [11].

Начиная с 2000 г., в Институте геохимии окружающей среды НАН Украины совместно с Институтом геронтологии и Научным центром радиационной медицины АМН Украины были начаты исследования по изучению и определению присущих (внутренних) изотопных соотношений некоторых биогенных элементов (в частности, углерода, магния, водорода, железа) в тканях человека. Конечной целью наших исследований является выявление и изучение зависимости между присущими (внутренними) соотношениями стабильных изотопов этих элементов в тканях человека и его функциональным состоянием [11, 14—16].

### Фракционирование изотопов углерода в биосистемах живых организмов

Впервые внутримолекулярную неоднородность углерода в биосистемах в 1961 г. обнаружили Р.Н. Abelson и Т.С. Hoering [17]. 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 (табл. 3).

**Таблица 3.** Наблюдаемое внутримолекулярное распределение изотопов углерода в аминокислотах [17]

Аминокислота	Наблюдаемый коэффициент разделения $\Delta^*$					
	<i>Chlorella</i>	<i>Anacystis</i>	<i>Scenedesmus</i>	<i>Chromatium</i>	<i>Euglena</i>	<i>Gracilaria</i>
Глутаминовая	1,012	1,028	1,021	1,022	1,022	1,010
Аргинин	1,020	—	—	—	1,023	1,011
Аспарагиновая	1,018	1,025	1,023	1,012	1,021	1,013
Лейцин	1,010	1,003	1,004	1,001	1,012	0,998
Изолейцин	1,015	1,010	1,005	—	—	1,066
Аланин	1,005	1,014	1,007	—	1,001	1,006
Треонин	1,018	—	—	—	1,014	1,008
Глицин	1,018	1,002	1,006	—	1,002	0,995
Серин	1,012	—	—	1,005	1,003	1,008
Тирозин	1,026	—	—	—	1,015	1,017
Фенилаланин	—	—	—	—	1,019	1,014

$\Delta^*$  определяется как  $\Delta = 1 + (\delta^{13}\text{C}_{\text{COOH}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{R}})$

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 S. Epstein [18] и А.А. Ивлева с соавторами [19—22]. 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.

В 1977 г. М. De Niro и S. Epstein продемонстрировали основное влияние изотопов на превращение пирувата в уксусный альдегид в дрожжах при помощи пируватдегидрогеназы, что позже приводит к изменениям  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  в жирных кислотах дрожжей [23].

Годом позже Т. Lyon и М. Baxter [24] 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 величиной. Они представили первый всеобъемлющий набор данных по изотопному составу углерода различных тканей организма человека (рис. 2).



**Рис. 2.** Изотопный состав некоторых тканей и органов 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 ‰).

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 «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. Разные ткани характеризуются также различной динамикой изотопных отношений из-за разной скорости обмена веществ.

Анализируя каждые две недели в течение восьми месяцев образцы волос головы и ногтей на содержание в них  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  и  $\delta^{18}\text{O}$  Fraser и др. [25] в 2006 г. обнаружили относительно небольшие колебания  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  волос ( $20,59 \pm 0,59$  ‰ и  $9,90 \pm 0,71$  ‰, соответственно) и ногтей ( $21,14 \pm 0,56$  ‰ и  $10,06 \pm 1,04$  ‰, соответственно). Большие колеба-

ния в содержании  $\delta D$  и  $\delta^{18}O$  были найдены при исследовании волос ( $66,2 \pm 4,1 \text{ ‰}$  и  $14,7 \pm 1,7 \text{ ‰}$ , соответственно) и ногтей ( $60,7 \pm 7,6 \text{ ‰}$  и  $13,1 \pm 1,5 \text{ ‰}$ , соответственно).

Еще в 2001 г. O'Connell [26] с соавторами обнаружили, что:

- коллаген костей обогащается относительно кератина волос на  $1,4 \text{ ‰}$  ( $\delta^{13}C$ ) и  $0,86 \text{ ‰}$  ( $\delta^{15}N$ );
- нет существенной разницы между содержанием  $\delta^{13}C$  в кератине волос и ногтей;
- кератин ногтей обогащается  $\delta^{15}N$  по отношению к кератину волос на  $0,65 \text{ ‰}$ .

Поэтому было высказано предположение о том, что различия в содержании  $\delta^{13}C$  могут быть обусловлены различиями в аминокислотном составе кератина волос и коллагена костей.

Фракционирование изотопов углерода в живых организмах обусловлено внутриклеточными процессами, а именно реакцией декарбоксилирования пирувата (рис. 3). Характер этого фракционирования во многом зависит от режима питания человека, так как практически все углеводы, поступающие в организм, преобразуются в глюкозу, основная часть которой, в свою очередь, путем гликолиза распадается до пирувиноградной кислоты и образует так называемый пируватный фонд (рис. 4).

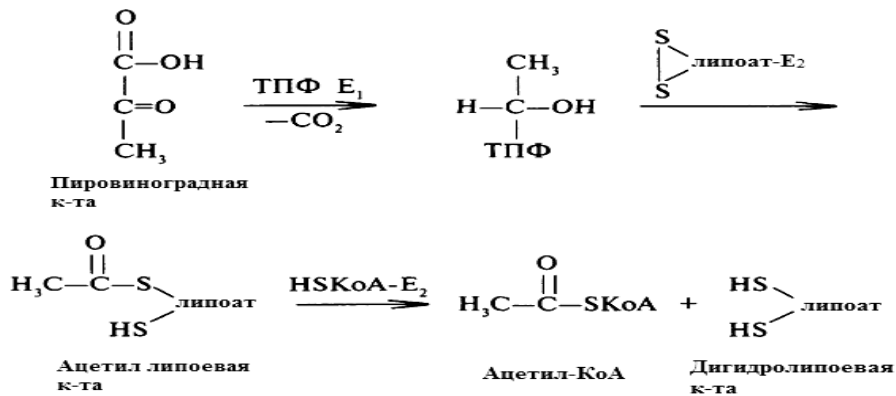


Рис. 3. Реакция декарбоксилирования пирувата

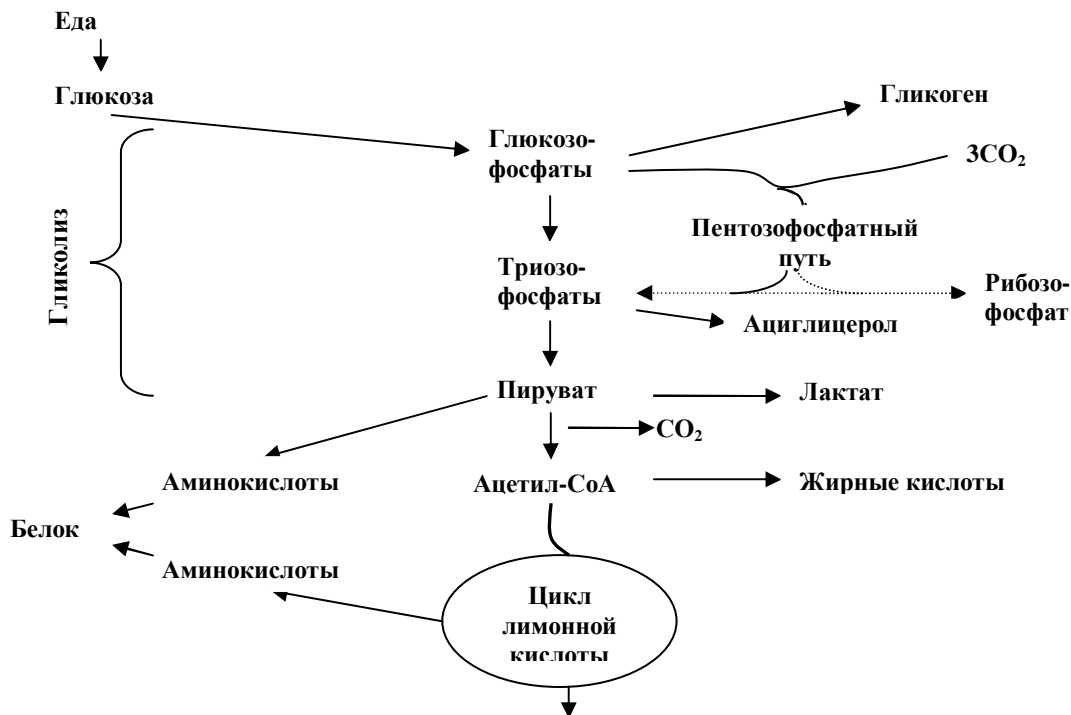


Рис. 4. Метаболическая цепочка преобразований пищи, поступающей в организм человека

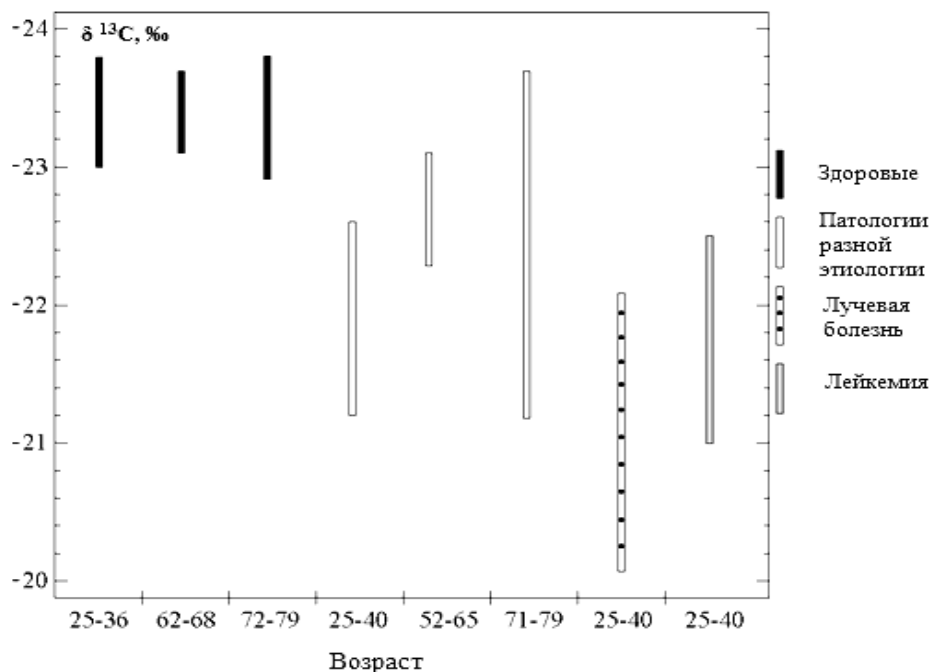
Именно на стадии распределения частей фонда пирувата на жизненно важные нужды организма и происходит фракционирование изотопов углерода. Часть фонда пирувата фе-

рментативно 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 привиноградной кислоты. Высвободившийся в процессе реакции углекислый газ вносит свой вклад в итоговый  $\text{CO}_2$ , который выдыхается организмом. Ацетил-*CoA* может вступать 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 [27]. 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. Результаты измерения изотопного состава углерода венозной крови представлены на рисунке 5.



**Рис. 5.** 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 интер-

вале —22,9 – —23,7 ‰. У больных людей разного возраста эти значения, соответственно, составляли —21,6 – —22,9 ‰ и —21,2 – —22,9 ‰.

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.

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.

Выраженные различия реакционных способностей магнитных и немагнитных ядер углерода обнаруживаются при радикальной полимеризации, так как магнитный изотопный эффект «умножается в цепной реакции». Так, N. Turgo с соавторами [28] исследовали эмульсионную полимеризацию стирола, инициированную фотолизом двух химически тождественных изотопных форм дибензолкетона  $\text{PhCH}_2\text{COCH}_2\text{Ph}$  и  $\text{Ph}^{13}\text{CH}_2\text{CO}^{13}\text{CH}_2\text{Ph}$ . Инициаторами полимеризации являются бензильные радикалы, рожденные преимущественно во вторичной радикальной паре ( $\text{Ph}^{12}\text{CH}_2$  и  $^{13}\text{CH}_2\text{Ph}$ ), появляющейся вследствие быстрого декарбонилирования первичной триплетной пары бензильного и ацильного радикалов. Как показал эксперимент, замена немагнитного ядра  $^{12}\text{C}$  его магнитным «близнецом»  $^{13}\text{C}$  изменяет химическую активность радикалов на 30—40 %. В первом случае, где активным центром инициации полимеризации является  $^{12}\text{C}$ , скорость и степень полимеризации намного выше, чем во втором, где активным центром инициации полимеризации является  $^{13}\text{C}$ . Это связано с тем, что во втором случае сверхтонкое взаимодействие индуцирует быструю спиновую конверсию радикалов с активным  $^{13}\text{C}$  из триплетного состояния в синглетное, и они предпочтительно рекомбинируют.

### 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.

Из таблицы 1 видно, что 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  $6,5^2$  раз для короткоживущих пар, до  $6^{1/2}$  раз для долгоживущих пар [7].

Такие различия в свойствах ядер могут стать причиной особенностей поведения тех или иных изотопов в химических и биохимических реакциях.

Водород входит в состав различных природных соединений в форме  $\text{H}_2$ , ( $-\text{OH}$ ), ( $-\text{CH}$ ), ( $-\text{SH}$ ) и ( $-\text{NH}$ ); в земных условиях основная его масса входит в состав такого жизненно необходимого соединения, как вода. Относительная разница масс изотопов водорода максимальна, в связи с этим природные вариации его изотопного состава достигают

в земных образцах 700 ‰, что предопределило хорошую изученность изотопных эффектов водорода.

Известно, что изотопы водорода поступают в человеческий организм главным образом с питьевой водой и пищей. Попадая в организм, вода становится участником разнообразных биохимических процессов, в результате чего ее атомы могут становиться структурными единицами различных соединений, синтезируемых организмом. Наглядный пример того, как изотопный состав воды отражается на изотопном составе синтезируемого организмом белка, приведен в работе [29]. Авторами показана прямая зависимость между изотопными составами (H, O) волос человека (состоящих преимущественно из белка  $\alpha$ -кератина) и употребляемой питьевой воды.

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 [30, 31].

По данным научных исследований 30-х годов прошлого века, касающихся влияния тяжелой воды ( $D_2O$ ) на жизнедеятельность организмов, возникло представление об их аномально высокой чувствительности к замещению в среде протия ( $^1H$ ) на дейтерий (D). В результате этого был сделан вывод, что тяжелая вода тормозит многие внутриклеточные процессы, а деление клеток становится невозможным уже при содержании в среде более 50 % дейтерия. Однако в результате большей доступности  $D_2O$  стало возможным проведение систематических количественных исследований влияния дейтерия на живой организм [32, 33]. Так, J. Katz установил, что многие одноклеточные организмы (водоросли и бактерии) в определенных условиях могут размножаться при практически полном замещении в среде  $H_2O$  на  $D_2O$  [34]. Однако при прямом переносе некоторых видов водорослей или бактерий, имеющих естественный изотопный состав, из обычной воды в воду с высокой концентрацией  $D_2O$  (70—100 %), наблюдается своеобразный полный или частичный «анабиоз». В первом случае полностью прекращается рост и деление клеток. Во втором случае значительная часть клеток во время «анабиотического периода» продолжает расти не делясь, и может достигать огромных размеров; некоторые из них в десятки раз превышают нормальные клетки. По истечению определенного периода времени, различного для разных организмов, происходит адаптация к необычной среде, а выжившие клетки начинают нормально расти и делиться. Такие же анабиотические явления наблюдаются при возвращении в  $H_2O$  клеток, адаптированных к изотопно чистой  $D_2O$ . Следует отметить, что такая адаптация отсутствовала у организмов более высокого уровня организации [35].

Сильное антимиотическое действие  $D_2O$  было обнаружено в первых же опытах. Так, в 1938 г. H. Varbour и E. Allen [36] описали замедление роста и обратное развитие трансплантированной лимфосаркомы и карциномы грудной железы мышей, получавших в качестве питьевой воды 40 %  $D_2O$ . Однако общая продолжительность жизни пораженных опухолями мышей под влиянием  $D_2O$  оказалась меньшей, чем в контрольной группе. Эта же проблема рассматривается в других работах [37, 38]. Из недавних можно выделить исследование, в котором было показано, что активность развития рака поджелудочной железы в культуре клеток AsPC-1, VxPC-3, и PANC-1 значительно уменьшается при последовательном применении 10—30 %  $D_2O$  и гемцитабина (difluorodeoxycytidine). При этом авторы показали, что потребление воды, содержащей 10—30 %  $D_2O$ , существенно не влияет на уровень моноклеарных клеток в периферической крови, что свидетельствует об ограниченном неблагоприятном действии  $D_2O$  на клетки костного мозга [39]. В других работах, напротив, отмечается позитивное (в дополнение к традиционным формам лечения) влияние именно облегченной (по дейтерию) воды при лечении онкозаболеваний. Противоопухолевый эффект и безопасность «легкой воды» для человека были подтверж-

дены в клинических испытаниях при лечении рака простаты [40]. Практически аналогичное противоопухолевое воздействие как тяжелой, так и легкой воды может свидетельствовать о том, что в некотором диапазоне содержание дейтерия в тканях имеет большое значение для нормального функционирования организма.

На первый взгляд, кажется возможным объяснить «изотопный анабиоз» нарушениями геометрического соответствия макромолекул ДНК, РНК или белка при замене изотопного водорода. Структура этих макромолекул закреплена водородными связями. Поэтому можно было бы предположить, что небольшие различия в размерах многочисленных водородных связей в макромолекуле могут заметно исказить трехмерные структуры и тем самым сделать невозможным взаимодействие противеых макромолекул с дейтериевыми [8]. Однако серьезным доводом против объяснения аномальных эффектов  $D_2O$  лишь деформацией водородных связей являются результаты работы E. Borek и D. Rittenberg [41]. Эти авторы наблюдали анабиоз, схожий с дейтериевым, для бактерий *E. coli* при переносе их из  $H_2^{16}O$  в 92 %  $H_2^{18}O$ . Изменения размеров и прочности водородных связей при замене  $^{16}O$  на  $^{18}O$  значительно меньше, чем H на D, однако степень подавления  $D_2O$  и  $H_2^{18}O$  роста и деления клеток была одного и того же порядка. Авторы пришли к выводу, что изменение геометрического соответствия самих макромолекул при замене воды среды не может быть полностью ответственным за наблюдаемый комплекс явлений.

В 60-х годах прошлого столетия было опубликовано несколько работ, касающихся изучения особых магнитных свойств нуклеиновых кислот [42, 43]. Авторы полагали, что изменения именно этих свойств наиболее существенно происходят при изменении изотопного состава воды, находящейся между макромолекулами, участвующими в редупликации. Появление в хромосомах или в нитях ДНК участков с аномальным соотношением D/H в результате резкого изменения изотопного состава воды может привести к изменениям их магнитных свойств, что обуславливает нарушения передачи информации и координации движения макромолекулы, требующихся для нормального митоза [42, 43].

Примером влияния различных магнитных свойств изотопов водорода на ход реакции может быть фотолиз двух дибензилкетонов –  $PhCH_2COCH_2Ph$  и  $PhCH_2COCD_2Ph$  [28]. По окончании фотолиза был измерен выход  $PhCH_2CH_2Ph$  и  $PhCD_2CD_2Ph$ , которые получают путем рекомбинации вторичных радикальных пар, образующихся после декарбонилирования первичных пар. Оказалось, что скорость спиновой конверсии радикальных протийсодержащих пар значительно превосходит скорость конверсии дейтерированных пар. В результате выход протиевого дибензила составил 33 %, а дейтерированного – только 28 % [28].

Изучением изотопного состава водорода организма человека до начала XXI века практически никто еще не занимался. Можно упомянуть только устное сообщение H. 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 [44]. 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 (табл. 4) [44].

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 [45, 46]. Именно с действием свободных радикалов кислорода, являющихся побочными продуктами некоторых биохимических реакций, связывают разрушительные процессы в организме, приводящие к его старению.



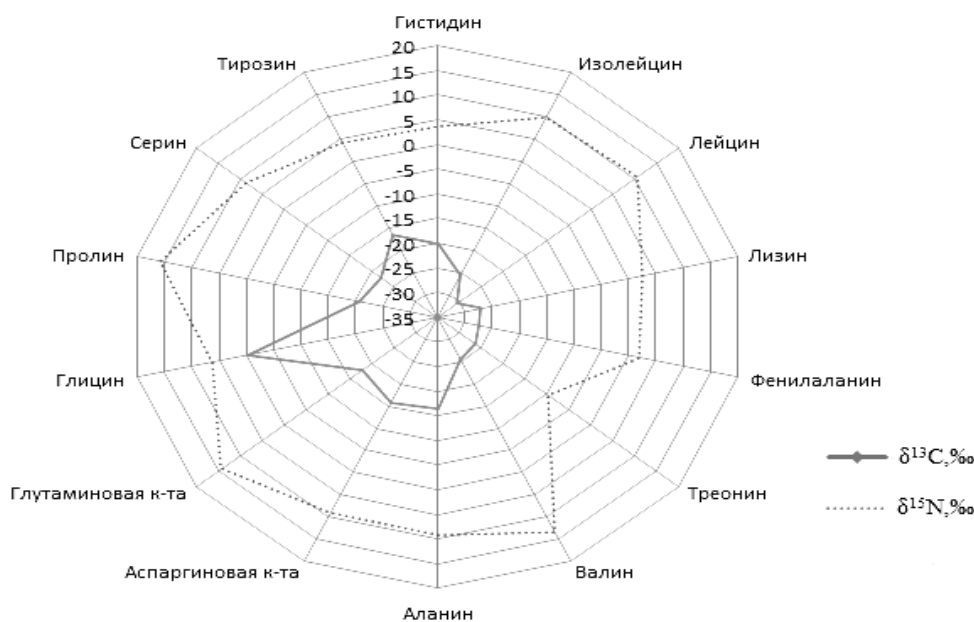
Свободные радикалы кислорода, будучи агрессивными акцепторами электронов, разрушают хрупкие цепочки ДНК и других белков преимущественно по связям С–С и С–Н, отнимая у одного из атомов электроны. Замена в цепочке макромолекулы Н и  $^{12}\text{C}$  на D и  $^{13}\text{C}$ , по утверждению авторов, должна существенно увеличить энергию связей (в случае замены Н на D – в 80 раз), что будет способствовать меньшей уязвимости макромолекул при действии свободных радикалов кислорода. Селективная замена Н и  $^{12}\text{C}$  на D и  $^{13}\text{C}$  в самых хрупких для действия оксидантов звеньях значительно увеличивает прочность макромолекулы в целом [46]. Однако вопрос об изменениях энергетического и конформационного межмолекулярного взаимодействия (вследствие нарушения трехмерных структур макромолекул), а также электромагнитных свойств макромолекулы при замене Н и  $^{12}\text{C}$  на D и  $^{13}\text{C}$  авторы не затрагивают.

**Таблица 4.** Изотопный состав водорода жидкостей и тканей человека

№ п/п	Образец	$\delta\text{D}$ , ‰
1	Водопроводная вода	–74
2	Влага выдоха человека	–83
3	Слюна человека (вода)	–49
4	Кровь человека (вода)	–48
5	Пот человека (вода)	–45
6	Урина человека	–44,5
7	Волосы человека	–78
8	Ногти человека	–82
9	Мясо свиньи	–79
10	Ушная сера человека	–161

### Внутримолекулярное фракционирование изотопов азота и кислорода

Интересные данные по фракционированию изотопов азота были получены С. Metges и К. Petzke [47]. Они определили  $\delta^{15}\text{N}$  тринадцати свободных аминокислот в плазме крови человека (рис. 6).



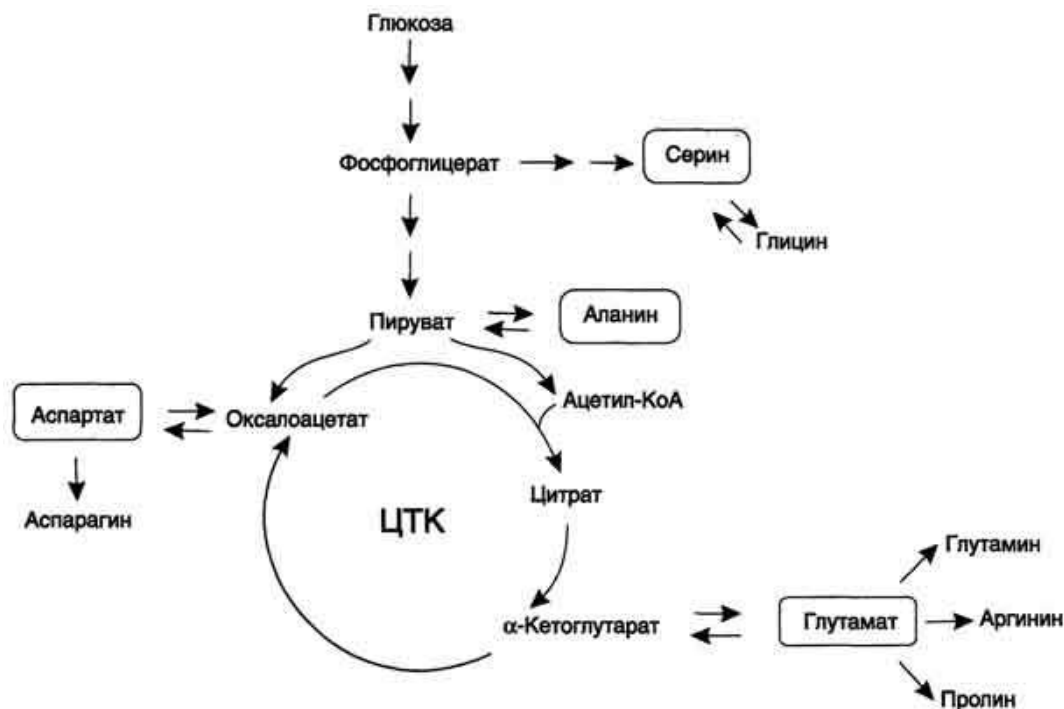
**Рис. 6.** Изотопный состав некоторых аминокислот выделенных из  $\alpha$ -кератина

Фенилаланин и треонин были наиболее истощены  $^{15}\text{N}$ . Также были обнаружены небольшие вариации  $\delta^{15}\text{N}$  (от 10 до 15 ‰) в аланине, лейцине, пролине и орнитине. В метаболическом отношении фенилаланин и тирозин отличаются по  $\delta^{15}\text{N}$  на ~ 15 ‰.

Позже К. Petzke с соавторами [48] измерили  $\delta^{15}\text{N}$  и  $\delta^{13}\text{C}$  для четырнадцати аминокислот человеческого волоса (рис.6). Разница между нижним и верхним значениями отдельных аминокислот по  $\delta^{13}\text{C}$  была ~30 ‰ (лейцин и глицин), а по  $\delta^{15}\text{N}$  – ~25 ‰ (треонин и пролин). Из данных, приведенных на рисунке 6, следует, что наиболее минимальные значения  $\delta^{13}\text{C}$  имеют так называемые незаменимые аминокислоты (гистидин-валин). Как известно, эти аминокислоты не синтезируются в организме эукариот.

Их изотопный состав (по углероду) остается неизменным, поскольку углеродная цепочка не изменяется в процессе биохимических превращений. Изотопные изменения в таких аминокислотах могут претерпевать атомы водорода и азота. В случае водорода это связано с тем, что энергия связи С–Н низкая, поэтому возможен изотопный обмен с «окружающей средой». В случае азота – с тем, что некоторая часть незаменимых аминокислот, в зависимости от биосинтетических потребностей организма, может переаминироваться в результате чего получают другие аминокислоты.

Для заменяемых и частично заменимых аминокислот наблюдается совсем иная зависимость. Такие аминокислоты, как аланин и аспарагиновая кислота существенно обогащены  $^{13}\text{C}$  по отношению к аминокислотам, которые синтезируются из метаболитов цикла Кребса, и имеют очень близкие значения  $\delta^{13}\text{C}$ . Это связано, по нашему мнению, с тем, что именно эти две аминокислоты синтезируются непосредственно из пируватного фонда (рис. 7).



**Рис. 7.** Пути синтеза некоторых из заменимых аминокислот в организме человека

Такая аминокислота как тирозин непосредственно в организме не синтезируется. Она образуется в организме при ферментативном катализе фенилаланина или поступает в организм с пищей. Как показано на рисунке 7, аминокислоты серин и пролин не синтезируются непосредственно из пирувиноградной кислоты. Наиболее обогащенная  $^{13}\text{C}$  аминокислота глицин, может синтезироваться в организме двумя путями: либо с помощью ферментативного катализа с серин, или непосредственным синтезом из углекислого газа и аммиака. Поскольку серин является одной из наиболее обедненных по  $^{13}\text{C}$  аминокислотой, то вероятно, что больший вклад в синтез глицина вносит реакция его образования из углекислого газа и аммиака.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что фракционирование изотопов углерода в организме человека (и не только) является неотъемлемой составляющей метаболических процессов, т.н. «изотопный метаболизм».

Изотопный метаболизм – межмолекулярное фракционирования 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 2000 г. для объяснения процессов фракционирования изотопов при изменении функционального состояния организма. По отклонениям в изотопных соотношениях можно

судить о состоянии метаболических процессов, что является эффективным инструментарием диагностики функционального состояния организма.

В. Fuller с соавторами [49] показали, что кроме диеты на значения  $\delta^{15}\text{N}$  влияет уровень азотного баланса организма. В ходе исследований у восьми беременных женщин, находившихся в состоянии стресса, вызванного тошнотой и рвотой по утрам, были взяты образцы волос и проверены на  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$ . Содержание  $\delta^{13}\text{C}$  в период утреннего недомогания или беременности не изменилось по сравнению с периодом до беременности. В то же время, значения  $\delta^{15}\text{N}$  увеличились во время периода потери массы тела, связанной с утренним недомоганием. По мере увеличения массы тела, выздоровления после перенесенного стресса и приближения срока наступления родов отмечена тенденция к уменьшению содержания  $\delta^{15}\text{N}$  в волосах. Эти данные свидетельствуют о том, что ткани человека находятся под влиянием отклонения в гомеостазе азота: катаболическое состояние приводит к увеличению содержания  $\delta^{15}\text{N}$ , тогда как анаболическое – к его снижению.

Что касается биологического фракционирования изотопов кислорода, то в большинстве имеющихся на сегодняшний момент сведений, говорится о влиянии на  $\delta^{18}\text{O}$  тканей человека прямого и/или косвенного изотопного соотношения кислорода потребляемой воды [29].

Таким образом, в результате тщательного обзора вышедшей на сегодня научной литературы по этой проблеме и собственных исследований создается банк данных изотопных соотношений С, Н, N и др. легких элементов в организме человека в зависимости от его здоровья и возраста. Мы полагаем, что изменение соотношений свойственных (внутренних) стабильных изотопов в организме человека в зависимости от патологических изменений, вызванных нарушениями метаболизма, могут стать потенциальной основой для создания и разработки критериев ранней диагностики. Авторы также считают, что для разработки точных методов диагностики необходимо анализировать изотопный состав репрезентативного набора комплекса жизненно необходимых элементов, приведенных в таблице 1.

К настоящему времени имеется довольно обширное количество работ о внутримолекулярном фракционировании жизненно необходимых микроэлементов, (среди них и наши разработки по внутримолекулярному фракционированию Fe и Mg в организме человека). В них показано, что организм селективно избирает определенные изотопы микроэлементов для биосинтетических нужд; причем критерием отбора является не масса, а наличие магнитного момента у ядра атома [11].

### **Вариации изотопов некоторых биогенных элементов в биосистемах живых организмов**

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). До недавнего времени механизмы фракционирования изотопов были достоверно описаны только для изотопов углерода.

А.Л. Бучаченко с соавторами [7] 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. Подобные эффекты были получены J.R. Black [50] при исследовании изотопного состава магния в хлорофилле-*a* при фотосинтезе.

Проведенные нами экспериментальные работы по исследованию изотопного состава магния в человеческом организме в 2009 г. показали, что у больных с явно выраженной пато-

логией 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.

Walczyk и фон Blanckenburg в своих работах в 2002—2005 годах [51, 52] показали, что изотопный состав кишечника человека преимущественно содержит легкий изотоп железа. Они обнаружили, что человеческая кровь и мышечные ткани имеют схожий изотопный состав по железу (средний  $\delta^{56}\text{Fe}$  являются 2,74 ‰ и 2,58 ‰, соответственно); волосы обогащены  $^{54}\text{Fe}$  ( $\delta^{56}\text{Fe} = 3,8$  ‰), а печень обогащается  $^{56}\text{Fe}$  (в среднем составляет 1,37 ‰  $\delta^{56}\text{Fe}$ ). Среднее содержание  $\delta^{57}\text{Fe}$  крови человека оценивается в 3,8 ‰. Т. Ohno с соавторами [53] определил содержание  $\delta^{56}\text{Fe}$  и  $\delta^{57}\text{Fe}$  в эритроцитах человека, как около 3 ‰ и 4,5 ‰ соответственно. Тенденция к обогащению крови человека  $^{54}\text{Fe}$  и истощение в  $^{56}\text{Fe}$  и  $^{57}\text{Fe}$  была поддержана и другими наблюдениями.

Маршалль с соавторами в 1999 г. [54] впервые оценили фракционирование меди в крови человека; содержание  $\delta^{65}\text{Cu} = 0,30$  ‰. Существует также доказательство в пользу фракционирования изотопов цинка в организме человека. Те же авторы сообщили, что содержание  $\delta^{66}\text{Zn}$  в цельной человеческой крови, равно 0,41 ‰. Стенберг и др. [55] провели измерения содержания  $\delta^{66}\text{Zn}$  для человеческого волоса и цельной крови (0,60 ‰ и 0,56 ‰ соответственно). Позже (2005 г.) Т. Ohno с соавторами оценивают содержание  $\delta^{66}\text{Zn}$  и  $\delta^{68}\text{Zn}$  для человеческого волоса, как 0,16 ‰ и 0,31 ‰, соответственно, в то время как содержание  $\delta^{66}\text{Zn}$  и  $\delta^{68}\text{Zn}$  эритроцитов крови человека составляет 0,43 ‰ и 0,83 ‰, соответственно. Сезонных колебаний этих значений обнаружено не было.

Существует относительно мало доказательств наличия гендерных различий в процессах фракционирования стабильных изотопов. Данные Walczyk и von Blanckenburg [56] 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 «Map and Geosphere» под редакцией доктора технических наук И.В. Флоринского [57].

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).

### Особенности поведения изотопов разной четности в биологических системах

Большинство химических элементов, как правило, представляют собой смесь изотопов, подобие химических свойств которых обуславливает строение электронной оболочки. Изотопы – это разновидности атомов одного и того же химического элемента, ядра которых содержат одинаковое количество протонов и различное количество нейтронов. Следовательно, возможны следующие вариации соотношений протонов и нейтронов в ядре: нечетно-нечетное ( $^{7}\text{N}$  и др.), нечетно-четное ( $^{8}\text{N}$  и др.), четно-нечетным ( $^{7}\text{C}$ ,  $^{9}\text{O}$  и др.) и четно-четное ( $^{6}\text{C}$ ,  $^{8}\text{O}$ , и др.).

Различия в фундаментальных свойствах ядер изотопов может формировать особенности поведения изотопов разной четности в химических и, особенно, в биохимических реакциях.

При изучении поведения стабильных и радиоактивных изотопов углерода и водорода, нами были найдены несоответствия в их поведении. Обнаружено отклонение от масс-зависимого линейного изотопного эффекта, суть которого заключается в пропорциональном изменении поведения всех изотопов одного и того же химического элемента закономерно изменению масс изотопов. Такие особенности в поведении радиоактивных изотопов весьма интересны ввиду актуальности проблем, связанных с ежегодно увеличивающимся количеством тритиевых и радиоуглеродных выбросов в окружающую среду, главным образом за счет антропогенных факторов (АЭС, заводы по переработки ядерного топлива и т.д.).

Несмотря на довольно большое количество работ, касающихся радиобиологического действия трития и радиоуглерода на живые организмы, остаются во многом неясными причины (механизмы) их накопления в молекулярных структурах.

Различие в поведении может быть вызвано различием физических фундаментальных свойств четных и нечетных ядер изотопов (четные – масса ядра, нечетные – масса и спин). Вследствие этого, вероятность химических реакций оказывается зависимой от наличия ядерного спина и величины его взаимодействия с электронным спином – так называемого сверхтонкого взаимодействия, что может сказаться на скорости реакции для изотопных молекул, на энергетическом состоянии и на ядерном магнетизме системы. Второй возможной причиной различия в поведении стабильных и радиоактивных изотопов может быть различие в концентрациях упомянутых изотопов, т.е. воздействие сверхнизких концентраций химических агентов на биосистемы.

В Институте геохимии окружающей среды НАН Украины длительное время проводятся исследования изотопного состава триад водорода и углерода в биосистемах (растительность, млекопитающие, в том числе человек). При систематизации полученных результатов выявились противоречивые особенности поведения стабильных и радиоактивных компонентов этих триад. Первым из настороживших нас фактов был тот, что в ряде работ было зафиксировано накопление в трофических цепях как трития, так и  $^{14}\text{C}$  [58]. Эти факты никак не согласовывались с поведением стабильных изотопов в трофических цепочках. Действительно никем не было обнаружено накопления дейтерия или  $^{13}\text{C}$  в пищевых цепочках.

Литературных данных о различном поведении изотопов Н и С в их триадах (Н–D–T и  $^{12}\text{C}$ – $^{13}\text{C}$ – $^{14}\text{C}$ ) в биосистемах, и, тем более научного объяснения этого различия, нами не было найдено. Большинство исследований ограничиваются изучением либо стабильных, либо радиоактивных составляющих без сопоставления особенностей их поведения.

Прежде всего, наши исследования касаются изучения поведения естественных концентраций изотопов в биологических системах. В тоже время в практике медицинских и биологических исследований широко применяется метод меченых атомов, в котором используют как стабильные, так и радиоактивные изотопы. Данный метод позволяет проследить механизмы последовательных биохимических процессов в организме путем наблюдения за судьбой меченого изотопа в продуктах метаболизма, биологических жидкостях и тканях. Однако введение меченых атомов без четкого понимания особенностей их поведения в биологических системах может привести к неправильной интерпретации получаемых результатов.

Ранее было показано, что изотопный сдвиг  $\delta\text{D}$  в тканях, биологических жидкостях и продуктах метаболизма человека близок к равновесию с внешней средой и отсутствует концентрирование D в трофических цепочках [44]. Существует баланс распределения изотопов водорода в организме, утяжеление воды биологических жидкостей компенсируется облегчением липидов. Исследования поведения трития (T) обнаруживают противоположную тенденцию к его накоплению в трофических цепях, более того отмечается наибольшее накопление T в липидной фракции растений.

Для выявления различий в поведении триады изотопов Н–D–T нами были проведены исследования по измерению их содержания в водопроводной воде, моче и влаге выдыхаемого воздуха человека (табл. 5).

Из табл. 5 видно, что активность потребляемой воды и влаги вдыхаемого воздуха существенно выше, нежели активность продуктов метаболизма человека, что свидетельствует о различном поведении D и T в организме человека (погрешность измерения составляет:  $\delta\text{D}$  –  $\pm 4$  ‰;  $\delta^{13}\text{C}$  –  $\pm 0,5$  ‰; активности (A): T – 5 %,  $^{14}\text{C}$  – 0,6 %). По-видимому, тритий, в отличие от дейтерия, концентрируется в молекулярных структурах организма, что и приводит к его накоплению в трофических цепях.

Для триады водорода установлены различия в поведении в биосистеме как дейтерия, так и трития. Противоположное поведение компонентов плеяды изотопов водорода в биологических системах, может быть связано, по нашему мнению, как с различием дипольных

моментов молекул  $H_2O$ ,  $HDO$  и  $HTO$ , так и с различными магнитными свойствами ядер изотопов водорода.

**Таблица 5.** Содержание изотопов водорода в изучаемых объектах

Проба	$\delta D, \text{‰}$	Активность Т, Бк $\times$ дм $^{-3}$
Водопроводная вода	—74	14,5
Влага воздуха	—79	12,7
Влага выдоха	—121	8,5
Урина	—58	10,8

В случае углерода было обнаружено ожидаемое уменьшение значений  $\delta^{13}C$  в липидных фракциях биосистем. Что касается радиоуглерода ( $\delta^{14}C$ ), то значение его фракционирования в биосистемах должно было бы достигать больших величин (по сравнению с  $\delta^{13}C$ ), следуя масс-зависимому изотопному эффекту, чем получено на практике. Однако литературные данные свидетельствуют о наличии концентрирования  $^{14}C$ , как и в случае с Т, в трофических цепочках растений, животных и человека по отношению к его содержанию в приземном воздухе. В растениях (зеленая трава пшеница) содержание  $^{14}C$  превышает, более чем в два раза, содержание его в приземном воздухе, при отсутствии какого-либо концентрирования  $^{13}C$  в трофических цепочках.

Однако есть литературные данные, которые свидетельствуют о том, что происходит концентрирование  $^{14}C$  в трофических цепочках растений, животного и человека по отношению к его содержанию в приземном воздухе. Отмечены данные, в которых содержание  $^{14}C$  в растениях (зеленая трава, пшеница) превышает содержание  $^{14}C$  в приземном воздухе в два раза. Наши данные по изотопному составу  $\delta^{13}C$  показывают отсутствие, какого либо концентрирования  $^{13}C$  в трофических цепочках.

Как видно из данных таблицы 6, происходит снижение концентрации  $^{13}C$  в изучаемых объектах, по сравнению с атмосферным воздухом (—7 ‰). Факт накопления  $^{14}C$  в пищевых цепочках, скорее всего указывает на разное поведение  $^{13}C$  и  $^{14}C$ .

Установленные различия в поведении стабильных и радиоактивных изотопов, предположительно связаны либо с четностью ядер, либо со сверхнизкой концентрацией радиоактивных изотопов, что обуславливают необходимость более строгого подхода к моделированию процессов фракционирования изотопов различной четности одного и того же химического элемента. Данные, полученные для изотопов одной четности, могут оказаться нерепрезентативными для изотопов другой четности.

**Таблица 6.** Содержание изотопов углерода в изучаемых объектах

Проба	$\delta^{13}C, \text{‰}$	A $^{14}C$ , Бк $\times$ г $^{-1}$
Мясо	—22,9	0,239
Шкура	—21,5	0,239
Шерсть	—22,5	0,238
Сало	—26,0	0,241
Белок яйца (рацион смешанный)	—19,6	0,236
Желток (рацион смешанный)	—22,4	0,241
Скорлупа яйца (рацион смешанный)	—3,9	0,246
Белок яйца (рацион: $C_4$ растения, кукуруза)	—14,1	0,242
Желток (рацион: $C_4$ растения, кукуруза)	—17,2	0,241
Скорлупа (рацион: $C_4$ растения, кукуруза)	+0,5	0,247

Наши исследования, прежде всего, касаются изучения вариаций естественных концентраций внутримолекулярных изотопов в биологических жидкостях, тканях и продуктах. Изотопные изменения могут служить потенциальным источником информации относительно происходящих в организме человека метаболических процессов как в нормальном, так и в патологическом состояниях. В практике медицинских и биологических исследований широко применяется метод изотопных индикаторов (меченых атомов), в котором используются как стабильные, так и радиоактивные изотопы. Данный метод позволяет проследить механизмы последовательных биохимических превращений в организме путем наблюдения за поведением меченого атома в продуктах метаболизма, биологических жидкостях и тканях. Однако введение меченых атомов того или иного химического элемента, несовпадающего по четности с аналогичными атомами в организме, без чет-

кого понимания особенностей их поведения в тех или иных биосистемах может привести к неправильной интерпретации получаемых результатов и соответственно к ошибочной диагностике.

Уже 40 лет как известно о существовании спина ядра и его магнитного момента, и 30 лет о ядерно-спиновых эффектах в химических реакциях (для радикальных, или ион-радикальных). Такие эффекты изучали преимущественно при помощи внешнего источника магнитного поля высокой напряженности. Магнитное поле стимулирует спиновую конверсию из синглетного состояния в триплетное, энергетическое состояние, в котором запрещен обратный перенос электрона. В результате оно влияет на скорость химических преобразований и на их исход. Подобного же эффекта можно достичь и без внешнего магнитного поля, но с магнитными ядрами атомов, которые в этом случае сами являются источниками магнитного поля. В ходе реакции происходит сортировка на магнитные и немагнитные ядра, в результате чего осуществляется фракционирование изотопов между исходными реагентами и продуктами реакции. Существование магнитного изотопного эффекта уже было доказано для изотопов таких элементов как Н, С, О, Mg, Si, S, Ge, Sn, Hg. Магнитный изотопный эффект для всех вышеприведенных элементов был показан в лабораторных условиях. Достоверного подтверждения его влияния на наблюдаемые вариации изотопов в косных природных объектах нет.

Несмотря на проведение многих тысяч анализов изотопных эффектов, наиболее изученных углерода и кислорода, в различных природных объектах, существуют трудности разделения кинетического и магнитного эффектов. Они заключается в том, что в обменном резервуаре – биосфере, кинетическое отставание  $^{13}\text{C}$  компенсируется его способностью вступать в химические реакции за счет магнитных свойств. Более того, поведение  $^{13}\text{C}$  подвержено влиянию магнитного поля Земли. Да и сама Земля представляет собой некий соленид, который должен сортировать изотопы. Да и сами магнитные полюса меняют свое местоположение, вплоть до «переполюсовки». Не исключена возможность того, что наблюдаемый широкий диапазон  $\delta^{13}\text{C}$  в биогенных карбонатах можно попытаться объяснить путем включения в рассмотрение, помимо кинетического, также и магнитного механизма образования этих объектов. Может быть удастся приблизиться к решению этого вопроса, если более внимательно изучить такие триады изотопов, как Н–D–T,  $^{12}\text{C}$ – $^{13}\text{C}$ – $^{14}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ – $^{17}\text{O}$ – $^{18}\text{O}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ – $^{25}\text{Mg}$ – $^{26}\text{Mg}$ .

### Выводы

Для успешного использования изотопов в хозяйственной деятельности человека всегда важно иметь правильное представление как об их природных свойствах, так и о различии в свойствах соединений различного изотопного состава. Это тем более существенно при исследовании сложных биологических систем.

Все живые организмы от бактерий до человека и их биохимические системы характеризуются как минимум двумя стабильными изотопными параметрами:

– Определенным изотопным составом, который можно назвать «изотопной картой» организма, биосистемы и т.д. Причем этот параметр, как и элементный состав организма, четко привязан к окружающей среде и является взаимосвязанным и взаимовлияющим.

– Наличие четких взаимоотношений между стабильными и естественными радиоактивными изотопами тех биогенных элементов, которые участвуют в жизнедеятельности живых организмов.

Стабильные и естественные радиоактивные изотопы играют основополагающую роль как в физических и химических свойствах самого элемента, так и во всех природных процессах в целом.

В настоящее время понятие об изотопах как атомах того или иного химического элемента, ядра которых различаются массовыми числами, дополнилось еще и различиями в их квантовых характеристиках. Соответственно классические кинетические изотопные эффекты, связанные с массой ядер, дополнились эффектами, которые основаны на разли-

чий их магнитных моментов. 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. Различия в фундаментальных свойствах ядер изотопов может влиять как на скорость химических реакций, так и на энергетическое состояние и ядерный магнетизм реагирующих систем.

Эти положения являются дальнейшим развитием идеи В.И. Вернадского о том, что существует разделение изотопов, связанное с явлениями, в которых химическое средство не погашает проявления физических сил.

Экспериментальные исследования, проводимые в Институте геохимии окружающей среды НАН Украины с 2007 г. по настоящее время, способствовали развитию в институте нового направления исследований – ядерной химии, основанной как на изучении фундаментальных свойств ядер изотопов разной четности, так и на особенностях их поведения в живых и неживых системах природы. Это направление становится актуальным для решения проблем ядерно-топливного комплекса в связи с ежегодным увеличением тритиевых и радиоуглеродных выбросов, главным образом за счет антропогенных факторов. Для медико-биологических проблем подобные исследования могут дать новые знания о механизмах метаболических преобразований, которые протекают в живых организмах. В области радиологии внутримолекулярные природные изотопные соотношения органогенных и некоторых биогенных элементов могут служить источниками информации о физиологическом состоянии организма, что может быть использовано в диагностических целях.

Современный уровень развития биологических наук и наук о Земле, о живом веществе сформировал единый мощный комплекс наук о различных проявлениях жизни и ее многообразии. Трансформация идей В.И. Вернадского, который в начале XX века, заложил основы их взаимозависимости, создают платформу для новых идей, понятий и новых направлений наук в настоящем и будущем.

1. *Вернадский В.И.* Несколько слов о ноосфере // Успехи современной биологии. – 1944. – № 18, вып. 2. – С. 113—120.
2. *Вернадский В.И.* Очерки геохимии. Очерк первый: Из прошлого геохимии // // Вибрані наукові праці академіка В.І. Вернадського. – Т. 7: Праці з геохімії та радіогеології. – Кн. 1 / За ред. Е.В. Собоновича, В.В. Доліна, Г.М. Бондаренка, Р.Я. Белевцева. – Київ, 2012. – С. 237—267.
3. *Бгатов А.В.* Биогенная классификация химических элементов // Философия науки. – 1999. – № 2. – Электронный ресурс: [www.philosophy.nsc.ru/journals/philscience/6\\_99/08\\_bgatov.htm](http://www.philosophy.nsc.ru/journals/philscience/6_99/08_bgatov.htm)
4. *Ленинджер А.Л.* Биохимия. – М.: Мир, 1976. – 957 с.; *Мецлер Д.* Биохимия. Т. 1. – М.: Мир, 1980. – 407 с.
5. *Эмсли Дж.* Элементы. – М.: Мир, 1993. – 256 с.
6. *Stone N.J.* Table of nuclear magnetic dipole and electric quadrupole moments // Atomic Data and Nuclear Data Tables. – 2005. – V. 90. – P. 75—176.
7. *Бучаченко А.Л.* Новая изотопия в химии и биохимии. – М.: Наука, 2007. – 189 с.
8. *Рогинский С.З., Шноль С.Э.* Изотопы в биохимии. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 379 с.
9. *Скульский Н.А., Лысенко О.Б., Демихов Ю.Н., Собонович Э.В.* Различия в поведении стабильных 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.
10. *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.
11. *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.
12. *Вернадский В.И.* О влиянии живых организмов на изотопические смеси химических элементов // Доклады АН СССР. – 1931. – №6. – С. 141—147.
13. *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.



14. *Соботович Э.В., Лысенко О.Б.* Изотопный сдвиг элементов в биологических процессах // Доп. НАН України. – 2001. – № 4. – С. 114—119.
15. *Соботович Э.В., Лысенко О.Б.* Изотопный сдвиг элементов в тканях растений как возможный индикатор биологической активности организма и фитопатологий // Збірник наук. праць ДНЦ РНС НАН та МНС України. – 2000. – Вип. 1. – С. 164—179.
16. *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. Конопли. – Гомель: Ин-т радиологии, 2007. – С. 130—135.
17. *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.
18. *De Niro M.J., Epstein S.* Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals // Geochim. et Cosmochim. Acta. – 1978. – **42**. – P. 495—506.
19. *Ивлев А.А.* Связь изотопного состава углерода волос человека с его функциональным состоянием // Биофизика. – 1992. – **37**, вып. 6. – С. 1086—1089.
20. *Ивлев А.А., Гончаров Н.П.* Изотопный состав углерода плазмы крови у пациентов с заболеваниями эндокринной системы // Пробл. эндокринологии. – 1993. – Вып. 39. – С. 36—40.
21. *Ивлев А.А., Князев Ю.А., Логачев М.Ф.* Короткопериодические колебания изотопного состава углерода CO<sub>2</sub> выдыхаемого воздуха в различных функциональных состояниях человека // Биофизика. – 1996. – **41**, вып. 2. – С. 508—516.
22. *Ивлев А.А., Князев Ю.А., Логачев М.Ф.* Среднесуточные значения изотопного состава углерода CO<sub>2</sub> выдыхаемого воздуха и мочевины мочи у человека в норме и при некоторых эндокринных патологиях // Биофизика, 1996. – **41**, вып. 2. – С. 502—507.
23. *De Niro M.J., Epstein S.* Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis // Science. – 1977. – **197**. – P. 261—263.
24. *Lyon T.D.B., Baxter M.S.* Stable carbon isotopes in human tissues // Nature. – 1978. – **273**. – P. 750—751.
25. *Fraser I., Meier-Augenstein W. and 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. – **20**. – P. 1109—1116.
26. *O'Connell, T.C., Hedges R.E.M., Healey M.A. and Simpson A.H.R.W.* Isotopic comparison of hair, nail and bone: modern analyses. – Journal of Archaeological Science. – 2001. – **28**. – P. 1247—1255.
27. *Ivlev A.A.* Carbon isotope effects (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) in biological systems // Separat. Sci. Technol. – 2001. – **36**. – P. 1819—1914.
28. *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. – **105**. – P. 1572—1577.
29. *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. – **105**. – P. 2788—2793.
30. *Волькенштейн М.В.* Структура и физические свойства молекул. – М.: Изд-во АН СССР, 1955. – 639 с.
31. *Привалов П.Л.* К проблеме о роли воды в биологических системах // Биофизика. – 1958. – **3**. – С. 738—743.
32. *Lewis G.N.* The biology of heavy water // Science. – 1934. – **79**. – P. 151—153.
33. *Urey H.C.* The separation and properties of the isotopes of hydrogen // Science. – 1933. – **78**. – P. 556—571.
34. *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. – **203**. – P. 106—116.
35. *Katz J.J., Crespi H.L.* Deuterated organisms: cultivation and uses // Science. – 1966. – **151**. – P. 1187—1194.
36. *Barbour H.G., Allen E.* Tumor growth in mice one-fifth saturated with deuterium oxide // Am. J. Cancer. – 1938. – **32**. – P. 440—446.
37. *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.
38. *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. – **28**. – P. 58—61.
39. *Hartmann J., Bader Y., Horvath Z. et al.* Effects of heavy water (D<sub>2</sub>O) on human pancreatic tumor cells // Anticancer Res. – 2005. – **25**. – P. 3407—3411.
40. *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. – **7**. – P. 172—181.
41. *Borek E., Rittenberg D.* Anomalous growth of microorganisms produced by changes in isotopes in their environment // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1960. – **46**. – P. 777—782.
42. *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. – **251**. – P. 976—978.
43. *Polonsky J., Douzou P., Sadron C.* Mise en évidence de propriétés ferroélectriques dans l'acide desoxyribonucléique (DNA) // C. R. Hebd Seances Acad. Sci. – 1960. – **250**. – P. 3414—3416.
44. *Деміхов Ю.Н.* Распределение изотопов водорода в организме человека // Доп. НАН України. – 2005. – №11. – С. 165—169.
45. *Demidov V.V.* Heavy isotopes to avert ageing? // Trends in Biotechnol. – 2007. – **25**, № 9. – P. 371—375.
46. *Shchepinov M.S.* Reactive oxygen species, isotope effect, essential nutrients, and enhanced longevity // Rejuvenat. Res. – 2007. – **10**. – P. 47—60.
47. *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. – **247**. – P. 158—164.
48. *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. Nutr.* – 2005. – **135**. – P. 1515—1520.
49. *Fuller B.T., Fuller J.L., Sage N.E. et al.* Nitrogen balance and  $^{15}\text{N}$ : why you're not what you eat during nutritional stress? // *Rapid Communicat. in Mass Spectrometry.* – 2005. – **19**. – P. 2497—2506.
50. *Black J.R., Epstein E., Rains W.D. et al.* Magnesium-isotope fractionation during plant growth // *Environmental Science and Technology.* – 2008. – **42**. – P. 7831—7836.
51. *Walczyk T. and von Blanckenburg F.* Natural iron isotope variations in human blood // *Science.* – 2002. – **295**. – P. 2065—2066.
52. *Walczyk T. and von Blanckenburg F.* Deciphering the iron isotope message of the human body // *International Journal of Mass Spectrometry.* – 2005. – **242**. – P. 117—134.
53. *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. – **20**. – P. 617—621.
54. *Maréchal C.N., Télouk P. and Albarède F.* Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry // *Chemical Geology.* – 1999. – **156**. – P. 251—273.
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. – **19**. – P. 55—60.
56. *Walczyk T. and von Blanckenburg F.* Natural iron isotope variations in human blood // *Science.* – 2002. – **295**. – P. 2065—2066.
57. *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.
58. *Демин С.Н.* Проблема углерода-14 в районе ПО «Маяк» // *Вопросы радиационной безопасности.* – 2000. – №1. – С. 61—66.

**Соботович Е.В., Лисенко О.Б., Деміхов Ю.М., Скульський М.О. ГЕОХІМІЯ СТАБІЛЬНИХ ІЗОТОПІВ ДЕЯКИХ БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ У БІОСФЕРІ**

*Вивчено особливості ізотопного фракціонування H, C, Mg, Fe, Zn в живих організмах, у тому числі й людини. Встановлено: фазовий ізотопний ефект у системі «повітря, що видихається–кров»; варіації ізотопів основних біогенних хімічних елементів у межах однієї біологічної системи; особливості поведінки парних і непарних стабільних і радіоактивних ізотопів хімічних елементів. Показано, що ізотопи є перспективним джерелом інформації фізіологічного стану організму, що може бути використано в діагностичних цілях.*

**Sobotovich E.V., Lysenko O.B., Demihov U.N., Skulskyi N.A. GEOCHEMISTRY OF STABLE ISOTOPES OF SOME BIOGENIC ELEMENTS IS IN BIOSPHERE**

*This study deals with peculiarities of isotopic fractionation of H, C, Mg, Fe, Zn in living organisms, including human. Investigated here are: phase isotope effect in the «exhaled air–blood» system, isotope variations of basic biogenic chemical elements within a biological system, mode of behavior of even and odd stable and radioactive isotopes of chemical elements. It is shown that the isotopes are promising source of information on physiological state of an organism, which can be used for diagnostic purposes.*