

## ВОЗМОЖНОСТЬ СТАБИЛИЗАЦИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ВТОРИЧНОЙ АСПИРИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ ИХС ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

*О.В.Коркушко, В.Ю.Лишневецкая, М.П.Калмыков, Т.С.Брюзгина, И.А.Самоць*

**Резюме.** В работе проанализирована возможность коррекции функционального состояния тромбоцитов у больных ишемической болезнью сердца пожилого возраста со вторичной аспиринорезистентностью альтернативным антиагрегантным препаратом клопидогрелем. Изучена возможность возобновления чувствительности к аскорбиновой кислоте у больных с вторичной аспиринорезистентностью после перерыва в приеме препарата.

**Ключевые слова:** клопидогрель, тромбоциты, вторичная аспиринорезистентность, ишемическая болезнь сердца.

## A POSSIBILITY OF STABILIZING THE FUNCTIONAL STATE OF PLATELETS IN CASE OF SECONDARY ASPIRIN RESISTANCE IN PATIENTS OF ELDERLY AGE WITH CORONARY DISEASE

*O.V.Korkushko, V.Yu.Lishnevs'ka, M.P.Kalmukov, T.S.Bryuzgina, I.A.Samots'*

**Abstract.** The paper analyzes possibilities of correcting the functional state of blood platelets in patients of elderly age with coronary disease and aspirin resistance by means of an alternative antithrombotic preparation – clopidogrel. Possibilities of restoring susceptibility to ascorbic acid has been studied in patients with secondary aspirin resistance upon withholding the intake of the preparation.

**Key words:** clopidogrel, blood platelets, secondary aspirin resistance, coronary disease.

Institute of Gerontology of Ukraine's AMS (Kyiv)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.158-162

Надійшла до редакції 25.08.2009 року

© О.В.Коркушко, В.Ю.Лишневецкая, М.П.Калмыков, Т.С.Брюзгина, И.А.Самоць, 2009

УДК 577.1+574.24:(581:591)+539.1+57.088.3

*О.В.Коркушко, О.Б.Лисенко, М.О.Скульський, Л.В.Лисенко, В.Б.Шатило*

## ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ЕФЕКТУ ФРАКЦІОНУВАННЯ СТАБІЛЬНИХ ІЗОТОПІВ ДЕЯКИХ БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ЯК НОВОГО РЕСУРСУ ПОТЕНЦІЙНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ПРО ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЗМУ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

Інститут геохімії навколишнього середовища НАН та МНС України, м. Київ  
ДУ «Інститут геронтології АМН України», м. Київ

**Резюме.** Розглянуті теоретичні питання щодо ролі властивих (внутрішніх) співвідношень ізотопів у функціонуванні живих організмів, зокрема людини. Особлива увага приділена ізотопному фракціонуванню вуглецю в організмі людини, як найбільш вивченого. Надані власні експериментальні дослідження, проведені спільно з Інститутом геронтології АМНУ щодо цієї пробле-

ми. Простежується залежність між значеннями внутрішніх ізотопних співвідношень окремих тканин людини та функціональним станом організму людини.

**Ключові слова:** властиві (внутрішні) співвідношення ізотопів, фракціонування ізотопів, піруват, метаболізм.

**Вступ.** Відомо, що всі живі організми складаються з певного набору хімічних елементів, генетично чітко контрольованого і такого, що передається в тих же співвідношеннях з покоління в покоління, тобто можна сказати, що хімічний склад – це важлива систематична ознака [7]. При цьому виникають два питання: по-перше, чи є така передача абсолютно стабільною з покоління в покоління або ж вона змінюється в процесі геохімічної еволюції земної поверхні, але зі швидкістю мало доступною людському сприйняттю

[1]. І по-друге, чи відповідає місце хімічного елемента в таблиці Менделєєва його ролі в живій речовині.

Тому можна вважати, що деякі помітні зміни в їх ізотопному складі не можуть не віддзеркалитися на стані функціональної активності організму. Починаючи з 1938 р., вже вийшла достатня кількість публікацій, що підтверджують це припущення [4-6, 12-14].

Практично всі системи живого організму містять як стабільні, так і природні радіоактивні

© О.В.Коркушко, О.Б.Лисенко, М.О.Скульський, Л.В.Лисенко, В.Б.Шатило, 2009

ізотопи, ядра яких різняться за низкою показників (маса, магнітний момент, квадрупольний момент, спин).

Для вдалого застосування ізотопів завжди важливо мати уяву як про властивості та відмінності самих ізотопів, так і про властивості та величину розходження властивостей одних і тих же сполук різного ізотопного складу. Це вкрай необхідно і для аналізу хімічних реакцій, особливо при аналізі складних біологічних проблем. Відомо, що фізичні та фізико-хімічні властивості речовин у разі зміни ізотопного складу тим більші, чим менший номер хімічного елемента (при одній і тій же різниці в атомних номерах ізотопів) [8].

Фракціонування ізотопів у хімічних і біохімічних реакціях, індукованих ізотопними ефектами, базується на двох фундаментальних властивостях атомних ядер – маса і магнітний момент. Кінетичний (мас-залежний) ізотопний ефект розподіляє ізотопні ядра за їх масами; магнітний ізотопний ефект фракціонує ядра за їх магнітними моментами [2].

Систематичне вивчення ізотопного складу елементів природних сполук дозволило в реальних рисах показати картину біогеохімічної поведінки ізотопів, у результаті чого визначено, що організмам властивий закономірний розподіл ізотопів між біомолекулами і всередині біомолекул [3]. Практично це положення постулює, що, по-перше, біологічне фракціонування ізотопів характеризується не тільки ізотопним зсувом між тими чи іншими ізотопами організму і середовища, але й глибокою диференціацією ізотопного складу між біохімічними фракціями, індивідуальними сполуками, що входять до складу фракцій, і навіть всередині біомолекул. По-друге, відсутність систематичних розходжень ізотопного складу між вищими і нижчими рослинами, між окремими видами вищих рослин, між автотрофами і гетеротрофами, інакше кажучи, відсутність залежності ізотопного складу від надклітинної організації свідчить про те, що біологічне фракціонування ізотопів відбувається на клітинному рівні, що складні процеси транспорту речовин і міжклітинного обміну, властиві вищим організмам, відіграють набагато меншу роль у біологічному фракціонуванні ізотопів. Тому справедливими є спроби багатьох дослідників знайти причини біологічного фракціонування ізотопів у тих фізико-хімічних процесах, які супроводжують біосинтез органічних сполук [3].

Фракціонування ізотопів – наслідок фізико-хімічної нерівноцінності ізотопів, що може відображатися або на швидкостях процесів, або на енергетичному стані системи.

Припускають, що біологічне фракціонування не пов'язується з якими-небудь окремими шляхами або етапами біосинтезу, а розглядається як властивість, що характерна всім біохімічним реакціям, які проходять в організмах. При цьому передбачається, що у всіх випадках діє подібний механізм фракціонування ізотопів. Загальність механізму та універсальність природи ізотопного

ефекту в різних біохімічних реакціях пов'язується з тим фактом, що всі біохімічні реакції відбуваються за неодмінної участі ферментів.

Ізотопні співвідношення біогенних елементів є складовими багатьох процесів і тому їх можна розглядати як потенційні індикатори функціонального стану.

Кожна стереохімічно унікальна позиція С, Н, N і О в усіх хімічних сполуках має ізотопне співвідношення, що відображає хімічні та фізичні процеси анаболізму і катаболізму молекул, а також інформацію про елемент. У межах організмів, фізично різні компартаменти, наприклад, плазма та органи можуть містити амінокислоти з різним ізотопним складом.

В останній час з'явилося багато робіт, які присвячені вивченню властивих (внутрішніх) співвідношень ізотопів у гідрології, геології, археології, біогеохімії, органічній геохімії, екології та ін. [10]. У цих роботах наводяться дані про вимірювання властивих (внутрішніх) співвідношень ізотопів у складних системах, які підтверджують наявність широкої інформації, що кодується в стабільних ізотопах деяких біомолекул [9]. Тобто, властиві (внутрішні) співвідношення ізотопів біогенних елементів – це той ресурс, який поки що слабо використовується в біології, медицині та ін. Особливо це стосується вуглецю, ізотопне фракціонування якого найбільш вивчено.

**Мета дослідження.** Провести науково-теоретичний пошук та власне експериментальне дослідження щодо виявлення стратегічного зв'язку між особливостями метаболічних перетворень в організмі людини, її функціональним станом та властивими для цього організму внутрішніми ізотопними співвідношеннями.

**Матеріал і методи.** Упродовж 2008-2009 рр. спільно з Інститутом геронтології АМНУ обстежено 28 осіб, з яких сформовано чотири групи. Першу групу склали дев'ять молодих здорових осіб, віком 25-36 років. До другої увійшло вісім осіб літнього віку (62-79 років), в яких видимої патології не виявлено. До третьої групи увійшло п'ятеро молодих осіб (16-30 років) із захворюваннями крові (двоє з тромбофілією, а також по одному з гемофілією, коагулопатією та дисфункцією тромбоцитів). До четвертої групи увійшли пацієнти літнього віку (62-76 років) із захворюваннями серцево-судинної системи (п'ятеро з гіпертонією і один з ішемічною хворобою серця).

Всі дослідники проводили в умовах клініки, де всім обстеженим забезпечувалися стандартна дієта, однаковий режим дня та прийом їжі. Метаболічно-активні ліки не використовувалися.

Для вивчення ізотопного співвідношення вуглецю використовували відмиті еритроцити, які отримували з проб венозної крові. Проби відбирали в стані спокою натще о 09.00 год. Після центрифугування та відмивання за допомогою фізіологічного розчину NaCl отримували еритроцитну масу, яку повільно висушували в чашці Петрі при температурі 36 °С.

Таблиця

**Результати вимірювання ізотопного складу вуглецю венозної крові  
у чотирьох груп обстежених**

Молоді особи, в яких патології не виявлено		Люди літнього віку, без видимих патологій		Молоді особи, в яких виявлені захворювання крові			Люди літнього віку, із захворюваннями серцево-судинної системи		
Вік	d <sup>13</sup> C,‰	Вік	d <sup>13</sup> C,‰	Вік	d <sup>13</sup> C,‰	Діагноз	Вік	d <sup>13</sup> C,‰	Діагноз
25	-23.4	62	-23.5	16	-22.6	Коагулопатія	62	-22.3	ІХС*
25	-23.7	64	-23.2	17	-21.6	Дисфункція тромбоцитів	65	-22.3	Гіпертонія
27	-23.4	70	-23.7	17	-22.0	Гемофілія	72	-21.2	Гіпертонія
32	-23.8	72	-23.7	21	-22.4	Тромбофілія	73	-22.9	Гіпертонія
32	-23.2	72	-23.7	30	-22.9	Тромбофілія	74	-22.7	Гіпертонія
33	-23.2	73	-23.7				76	-22.8	Гіпертонія
35	-23.1	78	-22.9						
36	-23.2	79	-23.7						
36	-23.2								
Середнє -23.23 Дисперсія ± 0.21		Середнє -23.51 Дисперсія ± 0.08		Середнє -22.2 Дисперсія ± 0.16			Середнє -22.36 Дисперсія ± 0.32		

Примітка. \*ІХС – ішемічна хвороба серця

Ізотопний склад вуглецю представлено як  $\delta^{13}\text{C}$ , що є відносним відхиленням ізотопних відношень  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  зразка від ізотопних відношень  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  стандарту PDB і подано у проміле (‰). Виміри проведені на мас-спектрометрі MI-1201B. Аналітичною формою слугував вуглекислий газ, який виділявся під час реакції зразка з окисом міді (CuO) у вакуумовані до  $5 \cdot 10^{-2}$  Ра ампулі при температурі 600°C упродовж 8 год. Довірчий інтервал одиничного виміру  $\delta^{13}\text{C}$  дорівнює  $\pm 0.4$  ‰ (середньо-квадратичне відхилення). За остаточний результат приймали середнє арифметичне із двох однакових незалежних зразків.

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Всього проведено 28 вимірювань ізотопного складу вуглецю венозної крові обстежених. Результати визначення  $d^{13}\text{C}$  наведені в таблиці.

Дослідження не виявили істотних відмінностей у співвідношенні легкого та важкого ізотопів вуглецю в крові здорових молодих осіб і здорових людей літнього віку. Хоча ми очікували, що середні значення  $d^{13}\text{C}$  крові у перших двох груп будуть різнитися між собою, оскільки, як відомо, в організмі молодих осіб переважають анаболічні процеси, а в організмі людей літнього віку – катаболічні. Відповідно в молодих здорових осіб повинна витратитися більша частина піруватного фонду на біосинтетичні потреби ніж у людей літнього віку. Як результат, кров молодих мала б збагачуватися більш важким ізотопом (ефект вичерпування фонду пірувата). На жаль, отриманні нами результати не дозволяють стверджувати про певну виражену різницю, між середніми значеннями  $d^{13}\text{C}$  першої і другої груп, оскільки різниця між ними вкладається в похибку експерименту.

При аналізі даних третьої та четвертої груп, можна простежити деяку кореляцію. Патологія справляє істотний вплив на співвідношення легких і важких ізотопів вуглецю. Якщо в здорових осіб вона становить  $\approx 23,2$ , то у хворих  $\approx 22,2$ . Тобто, у представників третьої і четвертої груп спостерігалось накопичення в крові важкого ізотопу вуглецю. Між показниками ізотопного співвідношення вуглецю і основного обміну речовин існує кореляційний зв'язок, що певною мірою свідчить про вплив реакцій внутрішньоклітинного метаболізму на ізотопний розподіл вуглецю в тканинах.

Ці відмінності в співвідношенні ізотопів повинні бути фактичним результатом відмінностей в ізотопному фракціонуванні, що відбувається при синтезі амінокислот у кожному організмі.

**Висновки**

1. Внутрішні ізотопні співвідношення характеризуються певними коливаннями для окремих біосистем в організмі, глибокою диференціацією в середині організму між індивідуальними з'єднаннями, які входять до однієї фракції і навіть в середині цих з'єднань.

2. Простежується залежність між значеннями внутрішніх ізотопних співвідношень окремих тканин людини та функціональним станом організму людини.

**Перспективи подальших досліджень** у цьому напрямку відкривають нові можливості в пошуках шляхів ранньої діагностики порушень процесів метаболізму в організмі людини.

## Література

1. Бгатов А.В. Биогенная классификация химических элементов / А.В.Бгатов // Философия науки. – 1999. – № 2 (6). – С. 25-33
2. Бучаченко А.Л. Новая изотопия в химии и биохимии / А.Л.Бучаченко. – М.: Наука, 2007. – 189 с.
3. Галимов Э.М. Природа биологического фракционирования изотопов / Э.М.Галимов. – М.: Наука, 1981. – 247 с.
4. Суточные изменения изотопного состава углерода CO<sub>2</sub> выдыхаемого воздуха у человека при некоторых нарушениях метаболизма / А.А.Ивлев, Н.Ю.Пантелеев, Ю.А.Князев [и др.] // Биофизика. – 1994. – № 39, вып. 2. – С. 393-398.
5. Ивлев А.А. Связь изотопного состава углерода волос человека с его функциональным состоянием / А.А.Ивлев // Биофизика. – 1992. – № 37, вып. 6. – С. 1086-1089.
6. Ивлев А.А. Изотопный состав углерода плазмы крови у пациентов с заболеваниями эндокринной системы / А.А.Ивлев, Н.П.Гончаров // Пробл. эндокринол. – 1993. – Вып. 39. – С. 36-40.
7. Brenna J.T. Natural intramolecular isotope measurements in physiology: elements of the case for an effort toward high-precision position-specific isotope analysis / J.T.Brenna // Rapid Communicat. in Mass Spectrometry. – 2001. – Vol. 15. – P. 1252-1262.
8. Cleland W.W. Use of isotope effects to elucidate enzyme mechanisms / W.W.Cleland // CRC Crit. Rev. Biochem. – 1982. – № 13. – P. 385-428.
9. Measurement of iron and zinc isotopes in human whole blood: preliminary application to the study of HFE genotypes / A.Stenberg, D.Malinovsky, B.Öhlander [et al.] // J. Trace Elements in Med. and Biol. – 2005. – Vol. 19. – P. 55-60.
10. Precise Zn isotopic ratio measurements of human red blood cell and hair samples by multiple collector-ICP-mass spectrometry / T. Ohno, A. Shinohara, I. Kohge [et al.] // Analytical Sciences. – 2005. – Vol. 21. – P. 425-428.

**ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭФФЕКТА ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ НЕКОТОРЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КАК НОВОГО РЕСУРСА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ИНФОРМАЦИИ О ПУТЯХ МЕТАБОЛИЗМА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА**

*О.В.Коркушко, О.Б.Лысенко, Н.А.Скульский, Л.В.Лысенко, В.Б.Шатило*

**Резюме.** Рассмотрены теоретические вопросы относительно роли свойственных (внутренних) соотношений изотопов в функционировании живых организмов, в частности человека.

Особое внимание уделено изотопному фракционированию углерода в организме человека, как наиболее изученного.

Предоставлены собственные экспериментальные исследования, проведенные совместно с Институтом геронтологии АМНУ по этой проблеме.

Прослеживается зависимость между значениями внутренних изотопных соотношений отдельных тканей человека и функциональным состоянием организма человека.

**Ключевые слова:** свойственные (внутренние) соотношение изотопов, фракционирование изотопов, пируват, метаболизм.

**PROBLEMS AND PROSPECTS OF USING THE EFFECT OF FRACTIONATION OF STABLE ISOTOPES OF SOME BIOGENIC ELEMENTS AS A NEW RESOURCE OF POTENTIAL INFORMATION ON METABOLIC PATHWAYS IN A HUMAN ORGANISM**

*O.V.Korkushko, O.B.Lysenko, N.A.Skulskyi, L.V.Lysenko, V.B.Shatiylo*

**Abstract.** Theoretical questions as to the role of inherent (internal) isotope ratios in the functioning of living organisms, a human in particular. Particular attention is given to carbon isotopi fractionation in the human organism as the most studied one. The authors submit their own experimental investigations carried out jointly with the Institute of Gerontology of Ukraine's AMS, dealing with this problem. A dependence between internal isotopic ratios of isolated human tissues and the functional state of the human organism is traced.

**Key words:** inherent (internal), isotopic rations, isotope fractionation, piruvat, metabolism.

Institute of Environmental Geochemistry of NAS and MEA of Ukraine (Kyiv)  
Institute of Gerontology of AMS of Ukraine (Kyiv)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.162-165

Надійшла до редакції 25.08.2009 року