

*tetrahalorftalevyj anhydrides belong to class 2 hazards (substances highly dangerous) and significantly increase the toxicity of combustion products of alkyd paints. Additive flame retardants do not affect the quality of the combustion products except for the appearance of anhydrous galogenftalevyh.*

## **АДАПТАЦІЙНА РЕАКЦІЯ ОРГАНІЗМУ НА РІВНІ ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ ПРИ ІНГАЛЯЦІЙНОМУ ЗАТРУСНІ ПРОДУКТАМИ ГОРІННЯ ПОЛІМЕРНИХ БУДІВЕЛЬНИХ МАТЕРІАЛІВ**

*Ляшенко В.І., Голіченков О.М., Волощенко О.І., Кучеренко О.Ю., Уманець Г.П.  
ДУ "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва НАМН України", м. Київ*

**Вступ.** Пожежі завжди були природним, антропогенним та техногенним фактором, який супроводжував людство на усьому його історичному шляху, сіючи смерть та трагедії. Особливо небезпечними вони стали наприкінці минулого і на початку нового століть у зв'язку з інтенсивним впровадженням у будівництво, техніку та побут горючих та легкозаймистих полімерних матеріалів в місцях масового скупчення людей. Саме тут принагідно згадати трагічні події в Таїланді, які відбулися в жовтні 2013 року, коли згорів крупний торговий центр «Super Cheap», забравши життя десятків людей. Аналогічні трагічні події з людськими жертвами відбулися в лютому того ж року в багатоповерховій будівлі торгового центру в індійському штаті Західна Бенгалія, торговому центрі Tutuban Mall на Філіппінах, у торговому центрі Villagio Mall, розташованому в столиці Катару Дохе (2012 році), коли поряд з дорослими загинули й діти. Ілюстрацію цих трагедій можна продовжити прикладами з України (Дніпропетровськ, Сімферополь, 2012) та Росії (крупні пожежі з людськими жертвами в Москві, Санкт-Петербурзі, Уфі).

Серед причин загибелі людей на пожежах поряд з такими небезпечними факторами, як термічні опіки та механічні травми, водночас стоять хімічні фактори, які викликають отруєння чадним газом (монооксидом вуглецю) та леткими продуктами термічної деструкції полімерних будівельних матеріалів.

З'ясування адаптивних можливостей організму до виживання у цих складних ситуаціях є актуальним і своєчасним, оскільки, поглиблене розуміння адаптаційних механі-

змів дасть можливість обґрунтування практичних клінічних заходів з метою їх застосування для поліпшення виходу організму з екстремального стану після інгальованого отруєння та з виниклої на цьому фоні гіпоксичної кризи.

В цьому адаптивному механізмі, який пов'язаний з метаболізмом кисню, тісно переплітаються процеси детоксикації хімічних чинників та циклу трикарбонних кислот (ЦТК, цикл Кребса), як головного джерела постачання окисно-відновних елементів (електронів та протонів) в ланцюг передачі електронів (ЛПЕ), який забезпечує механізм кисневого дихання організму.

Доказом того, що детоксикація екзогенних хімічних сполук в організмі супроводжується розвитком гіпоксичних процесів в організмі є наступні факти. Відомо, що молекулярний кисень в триплетному стані інертний і не здатен до взаємодії з екзогенними хімічними сполуками. Реакційно здатним він стає тільки в синглетному стані, що досягається в організмі завдяки ферментним системам його відновлення. До таких належить мікросомальна монооксигеназна система, яка локалізована в мембранах гладкого ендоплазматичного ретикулума. Вона каталізує відновлення одного атома молекули кисню з утворенням води та включенням другого атома кисню в екзогенну хімічну сполуку, що потрапляє в організм. Ця система включає два електронно-транспортні ланцюги, перший з яких складається з двох ферментів: НАДФН-Р<sub>450</sub> редуктази (НАДФ-нікотинамідаденін-динуклеотидфосфат) та цитохрома Р<sub>450</sub>, другий включає фермент НАДН-цитохром-*b*<sub>5</sub> редуктазу (НАДН-

нікотинамідаденіндинуклеотид), цитохром b<sub>5</sub> та ще один фермент – стеаройл-КоА-десатуразу. Сам процес біотрансформації екзогенних хімічних чинників з утворенням гідроксированих метаболітів відбувається наступним чином.

На першому етапі екзогенна хімічна сполука шляхом інклюзії за рахунок утворення водневих зв'язків зв'язується порфориновим циклом цитохрома P<sub>450</sub>. Надалі ксенобіотик RH активує відновлення заліза – 3 в порфориновому циклі до заліза – 2 з утворенням комплексу [P<sub>450</sub>-Fe<sup>2+</sup>·RH], що збільшує його спорідненість з молекулою кисню та прискорює приєднання другого електрона з утворенням комплексу [P<sub>450</sub>-Fe<sup>2+</sup>O<sub>2</sub><sup>-</sup> RH]. На наступному етапі Fe<sup>2+</sup> окиснюється і другий електрон приєднується до молекули кисню, що супроводжується його переходом в синглетний стан в комплексі [P<sub>450</sub>-Fe<sup>3+</sup>O<sub>2</sub><sup>2-</sup>]. Потім один з відновлених атомів кисню (O<sup>2-</sup>) зв'язує два протони з утворенням молекули води. Другий атом кисню з комплексу [P<sub>450</sub>-Fe<sup>3+</sup>O<sub>2</sub><sup>2-</sup>] витрачається на формування ОН-групи в екзогенній хімічній сполуці. Після чого гідроксильована сполука, метаболіт R-OH, відокремлюється від фермента.

Таким чином, в результаті першої фази детоксикації за участю цитохрома P<sub>450</sub> відбувається гідроксильовання екзогенних хімічних сполук з утворенням кисневонасичених гідрофільних метаболітів, які надалі, на другому етапі, виводяться з організму у вигляді водорозчинних глюкуронідів або сульфатів [1-3].

Детальний виклад механізму детоксикації ксенобіотиків спеціально зроблений авторами для того, щоб засвідчити його високу конкурентоспроможність у боротьбі з

іншими біохімічними окисно-відновними системами організму за клітинний кисень та електронно-транспортну систему і, в першу чергу, з ланцюгом передачі електронів по дихальному ланцюгу, який функціонує завдяки циклу трикарбонових кислот.

Тому отруєння організму продуктами горіння полімерних будівельних матеріалів на пожежах, яке обумовлене наявністю комплексу летких хімічних сполук, оксиду вуглецю та дефіцитом кисню, супроводжується гіпоксичними явищами з посиленням токсичних ефектів хімічних чинників.

**Мета.** На основі власних та відомих у науковій літературі даних з'ясувати закономірності формування адаптаційної реакції організму на рівні циклу трикарбонових кислот при гіпоксичному стані, обумовленому інгаляційною дією продуктів горіння полімерних будівельних матеріалів.

**Методи та результати досліджень.** Експериментальні дослідження з гострого затруєння лабораторних тварин (білі безпородні щурі-самці) газо-повітряною сумішшю горіння поєднання полівінілхлоридного пластика «Salamander» (Німеччина) та заполімеризованої пентафталевої емалі ПФ-115 (співвідношення – 1:1,5) виконували на устаткуванні за ГОСТ 12.1.044-89. ССБТ [4]. При обґрунтуванні насиченості композиції цих матеріалів відносно об'єму повітря камери горіння виходили з того, що утворені при горінні продукти не повинні викликати загибелі тварин упродовж 30 хвилин – імовірного часу знаходження людини в зоні пожежі зі збереженням життя. За результатами експериментальних досліджень нами встановлено, що ця насиченість повинна знаходитись в межах 48-52 г/м<sup>3</sup>.

Таблиця 1. Показники токсичності продуктів горіння комбінації будівельних матеріалів: фарби алкідної ПФ-115 + ПВХ (1,5:1).

Маса матеріалу, г/м <sup>3</sup>	Летальність, %	Показники токсичності, г/м <sup>3</sup>				
		HCL <sub>0</sub>	HCL <sub>16</sub>	HCL <sub>50</sub>	HCL <sub>84</sub>	HCL <sub>100</sub>
50	0	48-52	59-65	72-77	85-89	98-102
62,5	25					
75	62					
87	87					
100,0	100					

В наших дослідженнях вона складала  $50 \text{ г/м}^3$ . В експерименті упродовж 30-ти хвилинної експозиції затруювали групу з 10 лабораторних тварин, вагою  $220 \pm 15 \text{ г}$ . кожна. Експеримент повторювали тричі. Контролем служила аналогічна група, яка утримувалась на однаковому з експериментальною групою харчовому раціоні.

Кількісний та якісний склад продуктів горіння встановлювали за результатами газохроматографічних досліджень за розробленими нами методиками [5].

Визначення метаболітів ЦТК в гомогенатах печінки проводили фотометричними методами з використанням ферментних реакцій [6].

За розвитком перекисного окислення ліпідів в період після затруєння відслідковували за зміною концентрації малонового діальдегіда в гомогенатах печінки за його ре-

кцією взаємодії з с 2-тіобарбітуровою кислотою [7,8].

Мітохондріальне співвідношення вільних НАД<sup>+</sup>/НАДН оцінювали розрахунковим шляхом за глутаматдегідрогеназною реакцією [9,10].

За результатами аналітичних досліджень встановлено, що газова суміш, яка утворюється при горінні комбінації цих матеріалів включає оксиди вуглецю, групу аліфатичних та хлораліфатичних ізомерних сполук, а також акролеїн та бензойний альдегід. Питомі рівні ( $C_p$ ) виділення легких компонентів при горінні дослідженої комбінації будівельних матеріалів представлені в таблиці 2, де також наведено дані про кількісний склад газової суміші ( $C_n$ ), яка використовувалась в експерименті для інгаляційного затруєння.

Таблиця 2. Питомі кількісні рівні ( $C_p$ ) виділення легких компонентів з комбінації будівельних матеріалів: фарби алкідної ПФ-115 (6 г.) + ПВХ (4 г) та кількісний склад газової суміші ( $C_n$ ) при інгаляційному затруєнні.

Компоненти	$C_p$ , мг/г	$C_n$ , мг/м <sup>3</sup>
Монооксид вуглецю	$27,0 \pm 2,3$	$1350 \pm 80,4$
Діоксид вуглецю	$156,0 \pm 14,1$	$7\ 800 \pm 45,6$
2,3-диметилбутан	$4,2 \pm 0,34$	$210 \pm 34,8$
Акролеїн	$6,4 \pm 0,56$	$320 \pm 23,1$
Н-гексан	$16,3 \pm 1,43$	$815 \pm 45,2$
Метилциклопентан	$4,8 \pm 0,54$	$240 \pm 12,6$
Циклогексан	$5,6 \pm 0,38$	$280 \pm 14,7$
3-метилгептан	$55,7 \pm 4,56$	$2785 \pm 21,4$
3,6-диметилоктан	$13,8 \pm 1,27$	$690 \pm 32,5$
Альдегід бензойний	$1,8 \pm 0,21$	$90 \pm 11,4$
3-метил-пентан	$2,7 \pm 0,18$	$135 \pm 10,9$
2,3-диметилбутан	$3,6 \pm 0,13$	$180 \pm 14,5$
Трихлоретилен	$15,2 \pm 1,23$	$760 \pm 25,4$
2-метилгексан	$0,30 \pm 0,07$	$15 \pm 1,23$
(1-хлорпентан)	$196,3 \pm 5,46$	$9\ 815 \pm 65,4$
Ізобутилхлорид	$255,12 \pm 13,41$	$12\ 756 \pm 54,2$

Для виявлених в складі газової суміші компонентів, за виключенням моно-оксиду вуглецю, не характерна незворотня біологічна дія і вони відносяться до органічних сполук 3-го та 4-го класів небезпеки. Їхні середньо-смертельні концентрації ( $CL_{50}$ ) лежать у

межах  $3\ 000$ - $6\ 000 \text{ мг/м}^3$  для аліфатичних та хлораліфатичних сполук відповідно [11].

Дані про динаміку зміни концентрацій метаболітів ЦТК, а також малонового діальдегіду і співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН в постінгаляційний період затруєння дослідних груп тварин наведено в таблиці 3.

Таблиця 3. Зміна в часі концентрацій метаболітів ЦТК, глутамату, малонового диальдегіду та показників НАД+/НАДН в постінгаляційний період затруєння у печінці білих безпородних щурів, мкМ/г.

Показники	Термін після інгаляційної дії, години				
	Контроль	0,5	3	6	24
Піруват *	0,11±0,02	0,30±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01	0,10±0,01
	1,00	2,72	0,73	0,82	0,91
Лактат *	2,56±0,2	2,87±0,12	3,21±0,15	3,05±0,12	2,70±0,24
	1,00	1,12	1,26	1,19	1,05
α -кетоглутарат *	0,14±	0,10±0,009	0,06±0,01	0,08±0,01	0,12±0,01
	1,00	0,71	0,43	0,57	0,86
Глутамат *	3,90±	4,57±0,26	4,04±0,25	4,0±0,18	3,97±0,16
	1,00	1,17	1,04	1,03	1,02
Сукцинат *	1,02±0,09	1,84±0,12	0,58±0,06	0,76±0,08	0,98±0,07
	1,00	1,80	0,57	0,75	0,96
МДА *	439±	503±45	546±23	560±34	450±56
	1,00	1,15	1,24	1,28	1,03
НАД+/НАДН *	680±45	1350±120	940±86	850±89	740±56
	1,00	1,98	1,38	1,25	1,09

Примітка. \* – інтенсивність зміни концентрації показника у порівнянні з контролем ( $C_{\text{експ.}}/C_{\text{контроль}}$ ).

Аналізуючи одержані нами дані, наведені в табл.3, можна відзначити декілька різних за динамікою моментів у кількісній зміні метаболітів циклу трикарбонових кислот в постінгаляційний період затруєння.

Перший, це – різке наростання через 30 хвилини після затруєння концентрацій пірувату, сукцинту і показника відновленості ЛПЕ – співвідношення НАД+/НАДН та на цьому фоні зниження рівня

α –кетоглутарату. Через три години концентрація цих показників різко знижується з подальшим наближенням до контролю.

Другий момент – поступове наростання упродовж трьох годин концентрацій лактату з подальшим його зниженням і вирівнюванням у часі відносно контролю. Що стосується метаболіту білкового обміну – глутамату, то його концентрація в постінгаляційний період зростає не значно (в 1,17 рази) в перші 30 хвилин і плавно наближається до контролю.

На фоні цих кількісних змін метаболітів спостерігається активація в організмі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), про що свідчать показники МДА, які не повертаються до контролю упродовж 24 годин.

**Обговорення результатів.** Розглядаючи адаптивну реакцію організму в умовах гіпоксії, необхідно акцентувати увагу на основних складових механізми підтримання гомеостазу за цих умов Це – направленість біохімічної організації ЦТК для забезпечення функціональної збалансованості в умовах нестачі клітинного кисню та підтримання енергетичної забезпеченості організму.

Для пояснення подій, які розгортаються в організмі при гіпоксії за сумісної дії хімічних чинників, насамперед слід розглянути організацію в окислювально-відновних процесах ланцюга переносу електронів від органічного субстрату до кисню. Він розміщений у внутрішній мембрані мітохондрій і до його складу входять 4 білкових комплекси.

Комплекс I (НАДН: убіхінон-оксидоредуктаза) окиснює НАДН і передає електрони на мембранний убіхінон. Паралельно, при окисленні сукцинату комплексом II (сукцинат: убіхінон-редуктаза) відбувається відновлення убіхінона до убіхінола. Подальше окислення убіхінолу і перенос електронів на цитохром C каталізується комплексом III (убіхінол: цитохром с-редуктазою). На заключній стадії молекулярний кисень за

участі комплексу IV (цитохрома C : цитохромоксидаза) окиснює чотири молекули цитохрома C з вивільненням двох молекул води. Окисно-відновні реакції, які каталізуються комплексами I, III і IV, поєднані з генерацією трансмембранного потенціалу, вільна енергія якого використовується комплексом V (АТФ-синтетазою) для утворення АТФ з АДФ та неорганічного фосфору [12-14].

Кожний з чотирьох етапів цього процесу має різний рівень окислювального потенціалу, який стає більш електровід'ємним (наростаючим) по мірі наближення до його завершальної стадії – утворення двох молекул води. Цей ієрархічний розподіл пов'язаний з задіяністю в ньому молекулярного кисню, який завдяки електронно-від'ємним властивостям є лімітуючим фактором у підтриманні функціонального статусу ЛПЕ. Механізм функціонування ЛПЕ переважно забезпечується циклом трикарбонових кислот. Цикл лимонної кислоти (цитратний цикл, цикл Кребса, цикл трикарбонових кислот, ЦТК) - заключний етап катаболізму глюкози, в якому ацетильний залишок ацетил - КоА, постадійно, через утворення трикарбонових жирних кислот, окислюється до двох молекул  $\text{CO}_2$ . Тут утворюються відновлені коферменти (три молекули НАДН і одна молекула ФАДН<sub>2</sub> (флавінаденіндинуклеотид) та відбувається синтез трьох молекул АТФ [15,16]. При цьому, в окисно-відновних реакція вивільняються іони водню, які за участі нікотинамідаденіндинуклеотид- та флавіно-залежних дегідрогеназ надходять в ЛПЕ, і далі відбувається синтез води та окислювальне фосфорилування АДФ до АТФ. В реакціях відщеплення водню дегідрогеназами від субстратів коферментами служать окислені форми НАД<sup>+</sup> ФАД<sup>2+</sup>, ФМН<sup>+</sup> (флавінмононуклеотид), які відновлюються в ході цієї реакції. Для того, щоб ці коферменти знову брали участь в реакціях відщеплення та переносу іонів водню, по-перше, потрібна регенерація їх відновлених форм в окислену – НАДН до НАД<sup>+</sup> та ФАДН<sub>2</sub> до ФАД<sup>2+</sup>, що є можливим за достатньої напруженості кисню в клітинах. По-друге, відновленість НАД-ланки дихального ланцюга мітохондрій, яка як відомо, регенерується з різних джерел: від субстратів циклу Кребса при

участі специфічних дегідрогеназ; від оксидил-КоА-дегідрогеназ, які поставляють іони водню до НАД-ланки при окисленні жирних кислот та зі складної системи піруватдегідрогенази, повинна бути достатньо забезпеченою іонно-протонним потенціалом для регенерації окислених форм коферментів [15,16].

Таким чином, ступінь рівноваги між окисленими та відновленими формами коферментів (НАД<sup>+</sup>/НАДН та ФАД<sup>2+</sup>/ФАДН<sub>2</sub>) слід розглядати як модулятор ЦТК та ланцюга передачі електронів.

Аналізуючи одержані нами дані, які стосуються окисно-відновлювального статусу дихального ланцюга за співвідношенням НАД<sup>+</sup>/НАДН після 30-ти хвилинного інгаляційного затруєння білих щурів продуктами сумісного горіння полівінілхлоридного та лакофарбового матеріалу можна зробити висновок про його високу відновленість. Про це свідчить подана в таблиці динаміка зміни співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН: в перші 30 хвилин після затруєння відбувається різке наростання відновлених форм коферментів НАДН. В подальшому, упродовж 24 годин концентрація НАДН поступово знижується, однак, не досягає рівня контролю, що свідчить про неповну регенерацію окисно-відновного потенціалу ЛПЕ.

За умов накопичення НАДН інактивується піруватдегідрогеназний комплекс (ПДК) та інші каталітичні реакції за участю цитратсинтази, ізоцитратдегідрогенази та  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу. В свою чергу, через інактивацію ПДК, який каталізує перетворення пірувата (піровиноградна, кетопропіонова кислота) в ацетил-КоА, утворення ацетил-КоА пригнічується. Цим обумовлене зниження витрат пірувату в ЦТК і, внаслідок цього, наростання його концентрації в перші 30 хвилин постінгаляційного затруєння – у піковий момент зниження напруженості кисню в клітинах. В подальшому, коли в організмі розпочинає формуватись адаптивна реакція, направлена на нормалізацію співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН, невитрачений в ЦТК піруват переключується на окислення НАДН. В подальшому, як видно з таблиці 3, це зумовлює зниження концентрації пірувату в часі. Реакція окислення НАДН піруватом супроводжується його від-

новленням до лактату і концентрація останнього починає наростати в порівнянні з контролем, що підтверджується даними зазначеної таблиці.

Таким чином, утворення лактату з пірувату та забезпечення при цьому відновлення концентрації НАД<sup>+</sup> є однією з компенсаторних ланок при порушенні рівноваги в ланцюгу передачі електронів і протонів при окисно-відновних процесах за умов гіпоксії. В подальшому, лактат виводиться в кров та утилізується, перетворюючись у печінці в глюкозу. За умов достатньої кількості кисню він перетворюється в піруват, який в циклі трикарбонових кислот окиснюється до CO<sub>2</sub> та H<sub>2</sub>O.

Таким чином, при порушенні електронтранспортної функції редокс-ланцюга і високої відновленості її НАД-ланки клітини примушені шукати й інший шлях реокислення цитоплазматичного НАД<sup>+</sup>H, за яким кінцевий продукт гліколізу – піруват не піддається декарбоксілюванню і не втягується в цикл Кребса, а, приймаючи відновні еквіваленти від цитоплазматичного НАД<sup>+</sup>H, перетворюється в лактат зі звільненням нових порцій окисленої форми НАД<sup>+</sup>.

Безумовно, що у формуванні адаптаційного синдрому при гіпоксії, як і при дії інших негативних факторів хімічної природи, бере участь не тільки вуглеводнева система обміну. В коло його формування втягуються й інші системи організму, в тому числі й білкова. Одним з найбільш ключових субстратів, який поєднує взаємодію вуглеводневої та білкової систем є глутамат, оскільки за умов порушення окислювальних механізмів в ЦТК з нього утворюється α-кетоглутарат – один з важливих компонентів витратного циклу.

Глутамат відіграє велику енергетичну роль та є одним з основних збуджуючих медіаторів у корі головного мозку, гіпокампі, полосатому тілі та гіпоталамусі. Його можна розглядати як посередника при взаємодії вуглеводневої, білкової та нервової систем через задіяність в механізмі знешкодження амоніаку з утворенням глутаміну, який в великих кількостях надходить через мембрани в нейрони, де під дією ферменту глутамінази знову утворюється глутамат, що використо-

вується для синтезу гама аміномасляної кислоти,

Наведені в таблиці 3 дані свідчать, що концентрація глутамату через 30 хвилин після затруєння зростає, а потім упродовж доби знижується до рівня контролю. Зростання його концентрації в перший піковий момент після інгаляційного затруєння можна пояснити інтенсифікацією білкового обміну, який направлений на компенсацію енергетичних втрат організму при порушенні циклу трикарбонових кислот. Ця інтенсифікація набирає обертів з початку реакцій трансамінування за участі аміотрансфераз, які функціонують як в процесах катаболізму, так і при біосинтезі амінокислот. Головними субстратами в цих обмінних процесах, окрім глутамату, є такі амінокислоти як аланін і аспартат та відповідні їм дезаміновані кетокислоти, α-кетоглутарат, піруват та оксалоацетат. Акцептором аміногрупи від цих амінокислот, які піддаються трансамінуванню є α-кетоглутарат. Приймаючи аміногрупу, він перетворюється в глутамат, який передає цю групу іншій α-кетокислоті. Таким чином, в реакціях трансамінування основним донором аміногрупи є глутамат, а її акцептором α-кетоглутарат.

Ці кетокислоти, утворені з глутамату, окислюються в ЦТК, де утворюється АТФ, або використовуються для синтезу глюкози і кетонів тіл, компенсуючи енергетичні втрати організму в несприятливих для нього умовах.

При цьому, швидкість синтезу АТФ відповідає енергетичним потребам клітин. Це досягається узгодженою регуляцією усіх етапів заключного шляху катаболізму і, в першу чергу, перетворенням пірувата в ацетил-КоА, яким потім регулюються усі стадії витратного циклу та ЛПЕ. Оскільки, співвідношення АДФ/АТФ та НАД<sup>+</sup>/НАД<sup>+</sup>H в клітинах відносно постійні, то прискорення утилізації АТФ призводить до зростання концентрації АДФ і пришвидшенню окислення НАД<sup>+</sup>H в дихальному ланцюгу з наростанням концентрації НАД<sup>+</sup>. Наростання концентрації НАД<sup>+</sup>, в свою чергу, стимулює окислювальне декарбоксілювання пірувату і, навпаки, зростання при цьому концентрації АТФ і НАД<sup>+</sup>H знижує швидкість цього процесу. Таким чином, зміна співвідношень АДФ/АТФ

та НАД<sup>+</sup>/НАДН є найважливішими енергетичними регуляторами клітин.

Очевидно, що за умов гіпоксії, обумовленою дією хімічних чинників, суттєве зниження концентрації  $\alpha$ -кетоглутарату упродовж майже 12 годин, з одного боку, пояснюється його ключовою роллю в реакціях трансамінування, які направлені на підтримку рівноваги між вуглеводневим та білковим обмінами для компенсації витрат білковою системою енергетично значимого глутамату, з іншого – інактивацією  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу внаслідок накопичення НАДН.

Наступною причиною різкого зниження  $\alpha$ -кетоглутарату при гіпоксії є його переключення на забезпечення функціонування ЦТК, яке при гіпоксії знижується через пригальмовування утворення ацетил-СоА. При цьому, утворений із глутамату через реакції трансамінування  $\alpha$ -кетоглутарат, в результаті окислювального декарбоксілювання поетапно утворює СО<sub>2</sub>, сукциніл-КоА та сукцинат. Ці біохімічні перетворення супроводжуються вивільненням іону водню, а також відбувається регенерація НАД<sup>+</sup> до НАДН. Утворений на цьому етапі сукцинат перетворюється в фумарат під дією сукцинатдегідрогенази – флавопротеїна, молекула якого зв'язана з коферментом ФАД. В цій реакції сукцинат служить донором іонів водню, відновлюючи ФАД<sup>+</sup> до ФАДН<sub>2</sub>. Від ФАДН<sub>2</sub> електрони і протони передаються на убіхінон і далі через ланцюг цитохромів до молекулярного кисню, забезпечуючи функціонування ЛПЕ.

При гіпоксії за умов недостатності молекулярного кисню в ЛПЕ, значне збільшення концентрації сукцинату в крові в перші 30 хвилин (в 1,84 рази) можна пояснити тим, що фумарат, який утворюється з сукцинату знову відновлюється надлишком ФАДН<sub>2</sub> за участі сукцинатдегідрогенази до сукцинату. За достатнього кисневого забезпечення організму, подальше його зниження через три години порівняно з контролем пояснюється тим, що утворений в цій круговій реакції сукцинат починає активно окислюватися в ЦТК. Ця кругова реакція перетворення сукцинату в фумарат, і навпаки, має позитивне значення для відновлення статусу рівноваги між НАДН та НАД<sup>+</sup> і знімає гіперві-

дновленість ЛПЕ, яка сформувалась за гіпоксичних умов. Цьому сприяє утворена в круговій реакції окислена форма ФАД<sup>+</sup>, яка приймає водень від НАДН, тим самим знижуючи співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН та підвищуючи окислювальний статус ЛПЕ. Таким чином, сукцинат за умов гіпоксії стає лідируючим субстратом в ланцюгу передачі електронів, оскільки за цих умов домінуючими в реакціях передачі електронів та протонів стають не нікотинамідаденіндинуклеотид, а флавіно-залежні дегідрогенази, в колі яких відбувається окислення сукцинату.

З наведених вище міркувань можна зробити висновок про те, що переважне використання сукцинату в ЦТК можна розглядати як природний механізм захисту клітин від гіпоксії, при якому поповнення його фонду може відбуватися як за рахунок трансаміназних реакцій “глутамат-кетоглутаратним” шляхом, так і за рахунок реакцій циклу Кребса, що ідуть як в прямому, так і в зворотному напрямках. При зворотньому перебігу реакцій наявний запас малату, по мірі необхідності, перетворюється в фумарат, який, про що говорилося вище, відновлюється до сукцинату.

Відновлення фумарату супроводжується утворенням АТФ, і тому зворотні реакції “малат-фумарат-сукцинат” здатні підтримувати окислювальне фосфорилування навіть при повному кисневому голоданні (аноксії) організму і часто стають рятівними для організму в критичних умовах на пожежі. В умовах гіпоксії інверсійні перетворення фумарату виконують роль триггера, який в залежності від концентрації кисню регулює перебіг кінцевих реакцій циклу Кребса як у прямому, так і в зворотному напрямках, забезпечуючи при цьому синтез АТФ.

Не можна виключати втягування в загальний метаболічний шлях при гіпоксії і ліпідний обмін за рахунок  $\beta$ -окислення жирних кислот, оскільки він міцно зв'язаний з ланцюгом передачі електронів та загальними шляхами катаболізму. Його швидкість регулюється потребами клітин в енергії, тобто співвідношенням АТФ/АДФ та НАД<sup>+</sup>/НАДН, яке наростає при гіпоксії, і які також регулює швидкість реакцій ЛПЕ і загального шляху катаболізму. Взаємозв'язок між  $\beta$ -окисленням жирних кислот та ЦТК

прослідковується в тому, що водень в ЛПЕ надходить як з реакцій  $\beta$ -окислення, так і з ЦТК при окисленні ацетил-КоА. Тому  $\beta$ -окислення жирних кислот – важливий метаболічний шлях, що забезпечує синтез АТФ в дихальному ланцюгу. Окрім того, більш за все, в умовах гіпоксії жирні кислоти стають переважним джерелом енергії для м'язів та печінки, оскільки, в результаті пригальмовування ЦТК накопичуються проміжні метаболіти гліколізу і, зокрема, глюкозо-6-фосфат, який інгібує гексокіназу, перешкоджає використанню глюкози в енергозабезпеченні організму. В цьому випадку починають використовуватися жирні кислоти як головне джерело енергії в м'язових тканинах та печінці, зберігаючи глюкозу для нервових тканин та еритроцитів. Окрім того, оксиацил КоА, який функціонує в цій системі, бере участь у передачі іонів водню до НАД-ланки.

На фоні адаптаційної перебудови ЦТК та ЛПЕ у відповідь на дії гіпоксичних факторів в організмі розпочинає розвиватись каскад неконтрольованих кисеньзалежних реакцій, які сприяють зростанню процесу перекисного окислення ліпідів. Як видно з таблиці 3 упродовж доби гіпоксичний стрес сприяє підтриманню ПОЛ на рівні, значно вищому контролю.

Аналізуючи механізми функціонування ланцюга передачі електронів, можна вважати, що розвиток перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) при гіпоксії формується в умовах клітинної нестачі кисню тоді, коли на першій його стадії знижується рівень переходу електронів і протонів на коферменти нікотинамідаденіндинуклеодит-(НАД<sup>+</sup>) або флавіно-залежних (ФАД<sup>+</sup>) дегідрогеназ. При

цьому спостерігається кількісне наростання їх відновлених форм, НАДН та ФАДН<sub>2</sub>. На другій стадії, через кількісне зростання НАДН та ФАДН<sub>2</sub> в ЛПЕ, відбувається порушення передачі електронів та протонів на убіхінон через цитохром С до електровід'ємного молекулярного кисню. В цих умовах, через втрату електронів, ланцюг передачі електронів стає більш електропозитивним, тобто, знижується його окислювальна здатність. Як наслідок, при цьому в організмі відбувається перехід окисного окислення в закисне. Побічна втрата електронів з ланцюга передачі електронів та їх безпосередня взаємодія з киснем призводить до неконтрольованого утворення активних форм кисню (АФК). За цих умов в організмі спостерігається накопичення недоокислених метаболітів.

Наведені вище докази дозволяють зробити висновки про те, що одержані нами дані про інтенсифікацію в організмі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) при гіпоксії, а також низка інших результатів, одержаних при вивченні механізмів розвитку токсичності, зумовленої хімічними чинниками та факторами іншої природи, є свідченням на користь того, що ПОЛ є стереотипною реакцією відповіді організму на дію негативних факторів хімічної та фізичної природи, яка формується при порушенні нормального статусу ланцюга передачі електронів.

Водночас, перекисне окислення ліпідів є одним з системоутворюючих факторів кисневого гомеостазу організму, і ці реакції виконують як корисні функції в організмі, так і відіграють негативну руйнівну роль.

### Висновки

За результатами експериментальних досліджень встановлено, що при 30-ти хвилинному гострому інгаляційному затруєнні організму продуктами горіння полівінілхлоридних та лакофарбових матеріалів відбувається порушення циклу трикарбонових кислот, що виражається різким зростанням в організмі пірувату, сукцинату і відновлених форм НАДН, відбувається активація синтезу глутамату та значне зниження концентрації  $\alpha$ -кетоглутарату. На цьому фоні упродовж трьох годин після спостерігається повільне зростання лактату та розвиток процесу перекисного окислення ліпідів.

За результатами досліджень та відомими в науковій літературі положеннями зроблено висновок про те, що механізм формування адаптивної реакції організму у відповідь на дію хімічних факторів при нестачі кисню, направлений, в першу чергу, на усунення гіпервідновленості ланцюга передачі електронів шляхом нормалізації співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН. Це відбувається завдяки переключенню пірувата на окислення цитозольного НАДН до НАД<sup>+</sup>.



При цьому відбувається відновлення пірувату до лактату, що, як свідчать експериментальні дослідження, обумовлює зростання концентрації останнього в часі.

Різке зростання концентрації сукцинату в критичний момент після затруєння та подальше інтенсивне зниження пояснюється тим, що за умов сповільнення швидкості окисно-відновних реакцій в ЦТК сукцинат стає лідируючим субстратом в ланцюгу передачі електронів (ЛПЕ). Поповнення його фонду в ЦТК відбувається як за рахунок трансаміназних реакцій “глутамат-кетоглутаратним” шляхом, так і за рахунок зворотніх реакцій “малат-фумарат-сукцинат”, здатних підтримувати окислювальне фосфорилування навіть при повному кисневому голодуванні організму. Цим пояснюється активація синтезу глутамату та різке зниження концентрації  $\alpha$ -кетоглутрату як проміжного субстрата між глутатом та сукцинатом.

За умов гіпоксії внаслідок накопичення відновлених форм коферментів НАДН та ФАДН<sub>2</sub> ЛПЕ стає більш електропозитивним через побічну втрату електронів та протонів при їх передачі до електровід'ємного кисню. Побічна втрата електронів з ланцюга передачі електронів та їх безпосередня взаємодія з киснем призводить до неконтрольованого утворення активних форм кисню (АФК) та розвитку перекисного окислення ліпідів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами / Д.И. Метелица. – М.: – Наука, 1982. – 224 с.
2. Мазуров А.В. Кинетика образования фермент-субстратных комплексов цитохрома P-450 в микросомах печени крыс / А.В. Мазуров, А.В. Корякин, А.И. Арчаков // Биохимия. 1980. – №3. – С. 474-483.
3. Cytochrome P-450 research highlights of the last two decades / A. Alvares // Drug. Metabol. Rev. 1981. – V.12, – №2. – P. 431-436.
4. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов. Номенклатура показателей и методы их определения. ГОСТ 12.1.044-89. ССБТ. – М.: Изд. стандартов, 1990.
5. Ляшенко В.И. Флеш-десорбция – альтернатива существующим способам извлечения органических микропримесей из сорбентов при газохроматографическом анализе загрязненного воздуха / В.И. Ляшенко, В.Н.Чекаль // Гиг. и сан. 1991. – №4. – С. 78-79.
6. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. – М.: – Наука, 1969. – 740 с.
7. Ко К.М. Ferric ion-induced lipid peroxidation in erythrocyte membranes: effects of phytic acid and butylated hydroxytoluene / К.М. Ко // Mol. and Cell. Biochem. 1990. – №10. – P. 125-131.
8. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейникова // Лабораторное дело. 1989. – №7. – С. 8-10.
9. Великий Н.Н. Исследование регуляторной роли окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов во внутриклеточном метаболизме в тканях животных: Автореф.дисс...д-ра биол. наук. – Киев, 1987.
10. Ещенко Н.Д. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). / Ещенко Н.Д., Путилина Н.Ф. – Л: Изд-во Ленингр.ун-та, 1982. – 272 с.
11. Лазарев Н.В. Вредные вещества в промышленности: – М.: – Химия, 1976. – Т.1-3.
12. Виноградов А.Д. Каталитические свойства митохондриальной NADH:убихинон-оксидоредуктазы / А.Д. Виноградов и др. // Биохимия. 1999. – Т.64. – С. 174-193.
13. Nelson D.L. Lehningers principles of biochemistry / D.L. Nelson, M.M. Cox. 2004, Hardcover.
14. Alberts B. Molecular biology of the cell / B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J.D. Watson // Garland Publishing, 1994. – 678 p.
15. Ленинджер А. Биохимия: молекулярные основы структуры и функции клетки. – М.: Мир, 1974. – 957 с.
16. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. – М.: – Мир. – Т.1-3. 1990.

**АДАПТАЦИОННАЯ РЕАКЦИЯ ОРГАНИЗМА НА УРОВНЕ ЦИКЛА  
ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЗАТРАВКЕ  
ПРОДУКТАМИ ГОРЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ**

Ляшенко В.І., Голиченков О.М., Волощенко О.І.,  
Кучеренко О.Ю., Уманець Г.П.

*При острой ингаляционной затравке организма продуктами горения поливинилхлоридных и лакокрасочных материалов механизм формирования адаптивной реакции в первые сутки постингаляционного периода направлен на устранение гипервосстановленности цепи передачи электронов путем нормализации соотношения  $NAD^+/NADH$  за счет переключения пирувата на окисление цитозольного  $NADH$  до  $NAD^+$ , что подтверждается экспериментальными данными о нарастании концентрации лактата и снижении концентрации пирувата во времени.*

*В адаптивной реакции сукцинат является лидирующим звеном в цепи передачи электронов (ЦПЭ), о чем свидетельствует резкое увеличение его концентрации в критический момент после затравки и дальнейшее интенсивное снижение до уровня контроля. Активация синтеза глутамата и резкое снижение концентрации  $\alpha$ -кетоглутарата свидетельствует о мобилизации трансаминазной "глутамат-кетоглутаратной" реакции, которая направлена на восстановление фонда сукцината в ЦТК, который также поддерживается за счет обратных реакций "малат-фумарат-сукцинат".*

*Вследствие накопления восстановленных форм коферментов  $NADH$  та  $FADH_2$  при недостатке клеточного кислорода создаются условия для побочной потери электронов из ЦПЭ и их непосредственного взаимодействия из кислородом, что приводит к неконтролируемому образованию активных его форм (АФК) и развитию перекисного окисления липидов.*

**ADAPTAION A RESPONSE OF AN ORGANISM AT A LEVEL OF A CYCLE  
THREECARBONIC OF ACIDS FOR WANT OF INGALATION BY PRODUCTS  
OF BURNING POLYMERIC OF MATERIALS**

V.I. Lyshenko, O.M. Golichenkov, O.I. Voloshenko,  
O.U. Kucherenko, G.P. Umanec

*For want of acute ingalation an organism produkts of burning polyvinylchloride and farbens of materials the mechanism formations of an adaptive response per the first day after ingalation of period is directed on removal hiperredactions of a circuit of transfer of electrons by normalization of a parity*

*$NAD^+/NADH$  at the expense of switching pyruvat on oxidation cytosolic  $NADH$  up to  $NAD^+$ , that show to increase of concentration lactat and decrease pyruvatt in time.*

*In an adaptive response sukczynat is lider a link in a circuit of transfer of electrons (CTE), to what the sharp magnification it of concentration in importrat a moment after ingalation and further heavily decrease to a level of monitoring testifies. Activation of synthesis glutamat and sharp decrease of concentration  $\alpha$ -ketoglutarat testifies to mobilization transamiyazions "glutamat-ketoglutarats" responses, which is directed on restoring of fund sukczynat in CTA, which also is supported at the expense of return responses "malat-fumarat-sukczynat".*

*Owing to accumulation reductions of the forms coferments  $NADH$  that  $FAD.H_2$  for want of defect of cell-like oxygen there are conditions for collateral loss of electrons from CTE and them of interaction from oxygen, that results to do not controlation to formation active it of the forms oxygen and development of oxidation lipids.*