

## РОЛЬ ДИЕТИЛФТАЛАТУ В ІНІЦІАЦІЇ УТВОРЕННЯ ОСНОВ ШИФФА У МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

С.В. ТОНЮК, О. В. КЕЦА, М. М. МАРЧЕНКО

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, 58012  
e-mail: o.ketsa@chnu.edu.ua

Організм піддається впливу активних форм кисню (АФК), які інтенсивно генеруються у мікросомах печінки та можуть ініціювати процеси пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) в мембранних структурах клітини. Мета роботи – оцінити інтенсивність утворення вмісту кінцевих продуктів ліпопероксидації в мікросомах печінки щурів при введенні диетилфталату (ДЕФ). Дослідження проводили на трьох групах білих безпородних щурів: I – інтактні щури (К); II – тварини, яким *per os* вводили ДЕФ у дозі 2,5 мг на кг маси тіла; III – тварини, яким перорально вводили ДЕФ у дозі 5,4 мг на кг маси тіла. З печінки щурів виділяли мікросомну фракцію, у якій визначали вміст шиффових основ як кінцевих продуктів ПОЛ та ТБК-активних продуктів як продуктів-попередників основ Шиффа. Вимірювання вмісту шиффових основ здійснювали у гептановій фазі екстрактів ліпідів мікросомної фракції печінки щурів при довжині хвилі 400 нм, ТБК-активних продуктів – при 532 нм. Встановлено, що при щоденному введенні в раціон ДЕФ у дозі 2,5 мг/кг спостерігалось збільшення інтенсивності процесу ліпопероксидації у мікросомах печінки тварин, на що вказує підвищення вмісту кінцевих продуктів ПОЛ на 21-шу добу експерименту. Показано, що при підвищенні дози введення ДЕФ (5,4 мг/кг) спостерігалось суттєвіше зростання вмісту шиффових основ, оскільки їх вміст на 14-у добу введення ксенобіотика перевищував у 2,5 рази, а на 21-шу добу – у 3,4 рази показники інтактних тварин. Отже інтенсивність процесів ліпопероксидації залежить від концентрації та термінів надходження ДЕФ в організм.

*Ключові слова:* пероксидне окислення ліпідів, диетилфталат, мікросоми, основи Шиффа, ТБК-активні продукти, печінка

**Вступ.** Генерація та акумуляція продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) відбувається як в мітохондріях, так і в ендоплазматичному ретикулумі (ЕР), у результаті чого в клітині можуть ініціюватися процеси вільнорадикального окислення макромолекул. Одним із органів, у яких, в першу чергу, будуть ініціюватися вільнорадикальні процеси є печінка, оскільки у цьому органі відбувається біотрансформація ксенобіотиків, які і є основними ініціаторами процесу ліпопероксидації. Неконтрольований окисний стрес може призвести до дисфункціонування печінки (Moldavan et al., 2004). За дії ксенобіотиків запускається процес ПОЛ, що призводить до зміни ліпідного середовища (Valgimigli, 2023). Прикладом таких ксенобіотиків є фталати – напівлеткі синтетичні хімічні речовини органічної природи, які використовують як пластифікатори під час виробництва харчових упаковок, пляшок для води, фармацевтичних засобів та медичних виробів (Wang et al., 2021).

Широкорозповсюджений представник цієї групи речовин є диетилфталат (ДЕФ) (Hlisniková et al., 2020), який потрапляє в організм людини і тварин різними шляхами: респіраторно, перорально, перкутанно (Andersen, 2017).

Потрапивши в організм, ДЕФ піддається біотрансформації, яка передбачає наявність двох фаз. У I фазі сполука піддається гідролізу з утворенням моноетилфталату, який вступає у II фазу процесу – кон'югації. За дії ензиму II фази – УДФ-глюкуронілтрансферази, утворюється водорозчинний комплекс фталату глюкуроніду, який виводиться з організму (Zhang et al., 2021). Саме проміжний продукт біотрансформації ДЕФ може ініціювати ПОЛ з утворенням продуктів, які можуть бути біологічними маркерами цього процесу. Одними з найінформативніших маркерів ПОЛ є кінцеві продукти – основи Шиффа.

Мета роботи – оцінити інтенсивність утворення вмісту кінцевих продуктів ліпопероксидації в фракції мікросом печінки щурів за умов введення ДЕФ.

**Матеріали та методи.** Як дослідних тварин використовували білих безпородних щурів масою 120-160 г, маніпуляції над якими проводили згідно положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в дослідницьких та наукових цілях (Страсбург, 1986 р.).

У ході експерименту всіх тварин розділили на три групи: I – контрольна (інтактні щури); II – щури, яких піддавали впливу ДЕФ у дозі 2,5 мг

на кг маси тіла; III – щурі, яких піддавали впливу ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг маси тіла. ДЕФ вводили перорально протягом 21-ї доби (Wang et al., 2018). Евтаназію тварин здійснювали за допомогою легкого ефірного наркозу на 14 та 21 доби від початку введення ксенобіотика. З печінки тварин методом диференційного центрифугування виділяли мікосомну фракцію, з якої виділяли гептан-ізопропанольні екстракти ліпідів. Вміст кінцевих продуктів ПОЛ визначали в гептановій фазі, куди екстрагуються метаболіти, що утворюються при переокисленні жирних кислот.

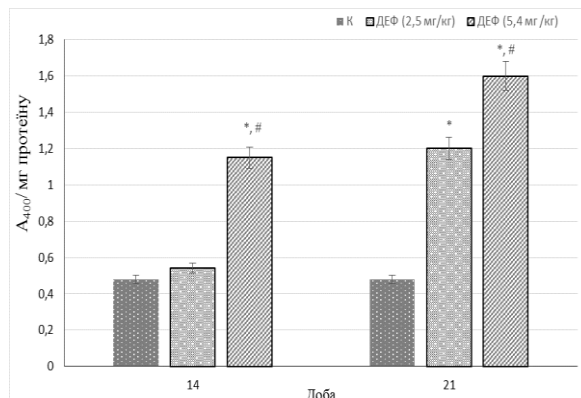
Інтенсивність ПОЛ оцінювали за визначенням вмісту основ Шиффа як кінцевих продуктів ПОЛ та ТБК-активних продуктів як продуктів-попередників основ Шиффа (Chakraborty et al., 2023). Визначення шиффових основ проводили при довжині хвилі 400 нм, ТБК-активних продуктів – при 532 нм. Статистична обробка експериментальних даних проводилася із використанням t-критерію Стьюдента. Статистично достовірними результати вважалися при значеннях  $P \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Результати проведених досліджень показали збільшення вмісту кінцевих продуктів пероксидного ліпоокислення в фракції мікосом печінки щурів за умов введення в організм ДЕФ в порівнянні з інтактними тваринами, що залежало від дози та термінів надходження ксенобіотиків. Так, якщо при двотижневому надходженні ДЕФ в організм у дозі 2,5 мг/кг не виявлено підвищення рівня шиффових основ, то після тритижневого введення ДЕФ їх рівень підвищувався у 2,4 рази порівняно з показниками контролю (рис.1). За умов введення ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг спостерігалось підвищення вмісту основ Шиффа вже на 14-ту добу експерименту, коли досліджуваний показник у 2,5 рази перевищував показник контролю (рис.1). Триваліше введення ксенобіотика в організм (протягом 21-ї доби) призводило до підвищення вмісту шиффових основ у 3,4 рази порівняно з показниками інтактних тварин (рис.1).

Отже, за умов введення диетилфталату відбувається ініціація процесу ПОЛ в мікосомній фракції, що проявляється підвищенням кінцевих продуктів ПОЛ та, ймовірно, спричинено токсичним метаболітом – моноетилфталатом. Саме ця речовина здатна запускати каскад вільнорадикальних процесів у клітині.

Поряд із підвищенням вмісту шиффових основ змінювався вміст ТБК-активних продуктів, основну частину яких представляв малоновий диальдегід (МДА). Так, показано підвищення

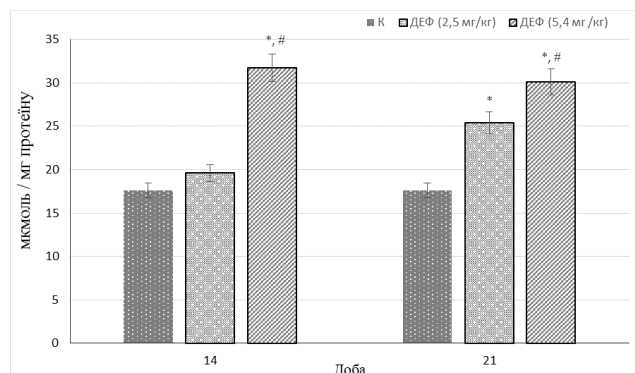
рівня ТБК-активних продуктів у 1,4 рази порівняно з відповідним показником у інтактних тварин лише на 21-шу добу після початку введення ДЕФ (рис.2).



**Рис. 1. Вміст основ Шиффа у фракції мікосом печінки щурів за дії на організм диетилфталату**  
**Fig. 1 The content of Schiff bases in the fraction of rat liver microsomes after exposure to diethyl phthalate on the body**

Примітка (тут і на рис.2): \* – достовірна різниця порівняно з контрольною групою щурів;  $P \leq 0,05$ ; # – достовірна різниця порівняно з групою тварин, яким ДЕФ вводили у дозі 2,5 мг/кг,  $P \leq 0,05$ .

Note (here and in Fig. 2): \* – significant difference compared to the control group of rats;  $P \leq 0.05$ ; # – significant difference compared to the group of animals that were administered DEF at a dose of 2.5 mg/kg,  $P \leq 0.05$ .



**Рис.2. Вміст ТБК-активних продуктів у фракції мікосом печінки щурів за дії диетилфталату**  
**Fig.2. The content of TBA-active products in the fraction of rat liver microsomes under the influence of diethyl phthalate**

При введенні ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг вміст ТБК-активних продуктів у 1,8 рази перевищував показник контролю на 14 добу експерименту. При збільшенні терміну введення цієї дози ДЕФ не виявилось тенденції до наступного підвищення вмісту ТБК-активних продуктів, оскільки їх рівень у мікосомній фракції печінки був стабільно високим та у 1,9 рази перевищував показник контролю. Тобто, за дії помірнотоксичних доз ДЕФ не спостерігалось тенденції до підвищення рівня ТБК-активних

продуктів. Виявлені зміни, ймовірно, є результатом того, що МДА взаємодіє з аміногрупами протеїнів, у результаті чого утворюються та накопичуються шиффові основи, які виступають маркером ПОЛ.

Зниження вмісту ТБК-активних продуктів, ймовірно, і лежить в основі підвищення рівня шиффових основ. На цей факт вказує індекс шиффоутворення (відношення основ Шиффа до вмісту ТБК-активних продуктів), який підвищується по мірі введення ДЕФ в організм.

Отже, токсичність ДЕФ полягає у здатності запускати вільнорадикальні окисні процеси в організмі, що призводить до генерації АФК, які спричиняють ініціацію ПОЛ.

**Висновок.** Інтенсивність ПОЛ у мікросомній фракції печінки щурів підвищується по мірі надходження в організм ДЕФ, на що вказують підвищені рівні основ Шиффа та їх попередників – ТБК-активних продуктів. Ініціація вільнорадикальних процесів у печінці призведе до порушення функціонування цього органу та розвитку ендотоксикозу.

**Конфлікт інтересів.** Авторами заявлено, що відсутні будь-які комерційні або фінансові відносини, які можна було б вважати як потенційний конфлікт інтересів.

#### References:

1. Moldovan L., Moldovan N.I. (2004). Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry & Cell Biology*, 122, 395–412. <https://doi.org/10.1007/s00418-004-0676-y>
2. Valgimigli L. (2023). Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection. *Biomolecules*, 13 (9), 1–33. <https://doi.org/10.3390/Biom13091291>
3. Wang Y., Qian H. (2021) Phthalates and Their Impacts on Human Health. *Healthcare*, 9 (5):603, 1–9. <https://doi.org/10.3390/healthcare9050603>
4. Hlisniková H., Petrovičová I., Kolena B., Šidloská M., Sirotkin A. (2020). Effects and Mechanisms of Phthalates' Action on Reproductive Processes and Reproductive Health: A Literature Review. *Internetaional. Journall of Environmental Research and Public Health*. 17(18): 6811, 1–37.
5. Andersen F.A. (2017). Dibutyl, Dimethyl, and Diethyl Phthalate and Butyl Benzyl Phthalate. *International Journal of Toxicology*. 36 (5). 44–45. <https://doi.org/10.1177/1091581817716148>
6. Zhang Y.J., Guo J.L., Xue J.Ch., Bai C.L., Guo Y. (2021). Phthalate metabolites: Characterization, toxicities, global distribution, and exposure assessment. *Environmental Pollution* 291, 1–15.
7. Wang, W., Leung, A.O.W.; Chu, L.H.; Wong, M.H. (2018). Phthalates contamination in China: Status, trends and human exposure-withan emphasis on oral intake. *Environmental Polluion*. 238, 771–782.
8. Chakraborty N., Mitra R., Dasgupta D., Ganduly R., Achraya K., Minkina T., Popova V., Churyukina E., Keswani C. (2023) Unraveling lipid peroxidation-mediated regulation of redox homeostasis for sustaining plant health. *Plant Physiology and Biochemistry* 206, 1–15.

## THE ROLE OF DIETHYLPHTHALATE IN THE INITIATION OF THE FORMATION OF SCHIFF BASES IN THE MICROSOMAL FRACTION OF RAT LIVERS

S.V. Toniuk, O. V. Ketsa, M. M. Marchenko

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,  
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.  
e-mail: [o.ketsa@chnu.edu.ua](mailto:o.ketsa@chnu.edu.ua)

*The body is exposed to reactive oxygen species (ROS), which are intensively generated in the microsomes of the liver and can initiate the processes of lipid peroxidation (POL) in the membrane structures of the cell. The aim of the work is to evaluate the intensity of formation of the content of the end products of lipoperoxidation in the microsomal fraction of the liver of rats under the action of diethyl phthalate (DEF). The study was conducted on three groups of purebred white rats: Group I – intact animals (K); II group – rats that were orally administered DEF at a dose of 2.5 mg/kg of body weight; Group III - rats that were orally administered DEF at a dose of 5.4 mg/kg of body weight. A microsomal fraction was isolated from the liver of rats, in which the content of Schiff bases was determined as the final products of LPO and TBC-active products as precursor products of Schiff bases. The content of Schiff bases was measured in the heptane phase of lipid extracts of the microsomal fraction of rat liver at a wavelength of 400 nm, TBC-active products at 532 nm. It was established that with the daily introduction of DEF in the diet at a dose of 2.5 mg/kg, an increase in the intensity of the lipoperoxidation process was observed in the microsomal fraction of the liver of rats, as evidenced by an increase in the content of the final products of POL on the 21st day of the experiment. It was shown that with an increase in the dose of DEF administration (5.4 mg/kg), a more significant increase in the content of Schiff bases was observed, since their content on the 14th day of administration of the xenobiotic exceeded 2.5 times, and on*

*the 21st day - by 3.4 times the indicators of intact animals. Therefore, the intensity of lipoperoxidation processes depends on the concentration and timing of DEF entry into the body.*

*Key words: peroxidation of lipids, diethyl phthalate, microsomes, Schiff bases, TBK-active products, liver.*

*Отримано редколегією 22.10.2024*

**ORCID ID**

Святослав Тонюк: <https://orcid.org/0009-0000-7424-7012>

Оксана Кеца: <https://orcid.org/0000-0002-2695-1790>

Михайло Марченко: <https://orcid.org/0000-0001-6104-0119>