

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології**

**Вміст кальцію та фосфору в сироватці крові щурів
як маркерів кальцій-фосфорного гомеостазу за умов
введення діетилфталату**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 400 А групи

Олександра КОРОЛЮК

Керівник:

к.б.н., доцент **Оксана КЕЦА**

*До захисту допущено
на засіданні кафедри
протокол № _____ від _____ 2025 р.
Зав. кафедрою _____ доц. Волощук О. М.*

Чернівці–2025

АНОТАЦІЯ

Бакалаврська робота присвячена дослідженню впливу диетилфталату (ДЕФ) на показник кальцію та фосфору в сироватці крові білих безпородних щурів. Експеримент проводили за умов перорального введення препарату в дозах 2,5 мг/кг та 5,4 мг/кг маси тіла тварин протягом 14 та 21 доби.

Встановлено, що під впливом ДЕФ відбуваються зміни концентрації кальцію та фосфору, що найбільш виражено проявляється за умов тривалішого введення вищої дози ксенобіотика. При введенні ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг протягом 21 доби зафіксовано достовірне зниження рівня кальцію та підвищення фосфору, що свідчить про порушення кальцій-фосфорного гомеостазу.

Отримані результати можуть вказувати на потенційний ризик токсичного впливу ДЕФ на показника кальцій-фосфорний профілю, що має значення для оцінки його впливу на кальцій-фосфорний обмін в організмі.

Ключові слова: кальцій, фосфор, сироватка крові, гіперфосфатія, гіпокальцемія, диетилфталат.

ABSTRACT

The bachelor's thesis is devoted to the study of the effect of diethyl phthalate (DEF) on the calcium and phosphorus index in the blood serum of white outbred rats. The experiment was carried out under the conditions of oral administration of the drug in doses of 2.5 mg/kg and 5.4 mg/kg of body weight of animals for 14 and 21 days.

It was established that under the influence of DEF, changes in the concentration of calcium and phosphorus occur, which is most pronounced under the conditions of prolonged administration of a higher dose of the xenobiotic. When DEF was administered at a dose of 5.4 mg/kg for 21 days, a significant decrease in calcium levels and an increase in phosphorus were recorded, which indicates a violation of calcium-phosphorus homeostasis. The results obtained may indicate a potential risk of toxic effects of DEF on the calcium-phosphorus profile index, which is important for assessing its effect on calcium-phosphorus metabolism in the body.

Keywords: calcium, phosphorus, blood serum, hyperphosphatemia, hypocalcemia, diethyl phthalate.

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання та відповідне джерело.

_____ **О. В. Королюк**

(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	5
1.1. Особливості участі кальцію та фосфору в біологічних процесах організму.....	5
1.1.1. Роль кальцію в організмі людини.....	8
1.1.2. Роль фосфору в організмі людини.....	10
1.2. Гормональна регуляція кальцієвого та фосфорного обмінів у організмі.....	12
1.2.1. Паратгормон.....	13
1.2.2. Кальцитонін.....	14
1.2.3. Кальцитріол.....	16
1.2.4. FGF23 (фактор росту фібробластів 23).....	17
1.4. Механізм впливу диетилфталату на організм.....	19
II. ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	23
2.1. Об'єкт та методи досліджень.....	23
III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	29
ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
ДОДАТКИ.....	38

ВСТУП

У наш час проблема впливу хімічних сполук антропогенного походження на здоров'я живих організмів викликає значну зацікавленість як серед науковців, так і серед фахівців у сфері охорони довкілля. Значне поширення у повсякденному житті набули фталати – речовини, що застосовуються для надання еластичності полімерним матеріалам, а також входять до складу косметичних і парфумерних виробів.

Серед них особливе місце посідає диетилфталат (ДЕФ) – сполука, яка може негативно впливати на різні фізіологічні системи. Цей фталат здатен потрапляти до організму різними шляхами – через дихальні шляхи, шкіру та з їжею, накопичуючись у тканинах та викликаючи функціональні зміни в організмі.

Видається актуальним вивчення впливу диетилфталату на мінеральний обмін, зокрема на баланс кальцію і фосфору, який є критичним для нормальної роботи м'язової, кісткової та нервової систем. Порушення метаболізму цих показників в організмі може спричинити системні порушення, включно зі змінами біохімічного складу крові.

Особливо важливими у цьому контексті є рівні кальцію та фосфору в сироватці крові, які не лише відображають загальний метаболічний стан, а й виконують ключову роль у згортанні крові, проникності мембран та міжклітинній взаємодії.

Вивчення вмісту кальцію та фосфору у сироватці крові лабораторних тварин після введення ДЕФ може бути важливим підходом для розуміння механізмів його дії на мінеральний гомеостаз. Ці показники можуть виконувати роль ранніх маркерів токсичності, що відкриває можливості для ранньої діагностики та профілактики порушень, викликаних впливом шкідливих речовин.

Метою роботи було визначити вміст кальцію та фосфору в сироватці крові щурів як маркерів кальцій-фосфорного гомеостазу за умов введення диетилфталату.

Для досягнення цієї мети було поставлено такі завдання:

1. Визначити вміст кальцію в сироватці крові за умов введення диетилфталату.
2. Оцінити вплив диетилфталату на рівень фосфору в сироватку крові щурів.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Особливості участі кальцію та фосфору в біологічних процесах організму

1.1.1. Роль кальцію в організмі людини.

Кальцію та фосфору в організмі людини, відіграють одну із важливих ролей. На сьогодні встановлено, що як внутрішньоклітинний, так і зовнішньоклітинний кальцій (Ca) відіграють ключову роль в активації секреторних процесів. Попри це, окремі дослідники висловлювали припущення про домінуюче значення лише внутрішньоклітинного Ca у секреції. Проте експериментально доведено, що в процесі травних виділення ферментів ацинарними клітинами підшлункової залози щурів критичною є участь зовнішньоклітинного Ca. Початковий етап стимуляції може відбуватися й за його відсутності в середовищі - завдяки внутрішньоклітинним депо кальцію. Встановлено, що депонований Ca забезпечує секрецію лише 6–10% загальної кількості білка, тоді як надходження кальцію з позаклітинного середовища зумовлює вивільнення до 44% білка. Також засвідчено, що за умов дефіциту кальцію в середовищі практично повністю припиняється кальцій-залежна секреція як нейрональних медіаторів, так і гормонів, що виробляються залозистими клітинами. У відповідь на зовнішні стимули відбувається підвищення концентрації Ca у цитозолі клітини, що запускає відповідні сигнальні процеси [1].

Джерелом кальцію рекомендується молочні продукти, так як кальцій є активною речовиною яку рідко можна побачити в чистому вигляді, частіше всього його зустрічають у вигляді солей. Так як більшість солей кальцію нерозчинні, з цього можна зробити висновок, що значно робить складнішим всмоктуватися в травному тракті. Тому обмін кальцію відбувається за наявності вітаміну D [2].

Функція кальцію полягає в основному для формування кісткової тканини. В організмі людини приходить дуже багато біохімічних реакцій,

одні клітини гинуть, нові утворюються. Кісткова тканина не являється виключенням, її клітини гинуть і постійно оновлюються і для цього потрібний запас кальцію. Кальцій в кістках перебуває у вигляді сполуки гідроксилапатиту ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)\text{OH}$) [2].

Одну із важливих ролей кальці відіграє в роботі серця. Під час скорочування серця відбувається збудження нервового імпульсу, завдяки якому серцевий м'яз розслабляється у фазі діастолі. Так як робота серця є постійною, для нього є важливою фаза відпочинку. Кальцій також забезпечує розслаблення скелетних м'язів, блокуючи надмірне збудження нервових закінчень. Тому солі кальцію можуть використовувати для відміни судомних скорочень [2].

Ще одну функцію кальцію займає у функціонуванні крові в організмі. Кальцій в сироватці крові становить 10-13 мг в 100 мл всієї маси тіла, 50% цієї маси - це кальцій зв'язаний з білками, а інша половина це кальцій який має назву вільного або іонізований [3].

З них іонізований елемент є фізіологічно активний. Концентрація кальцію засвоюється і змінюється в крові, що відбувається за фізіологічних умов, а також при запальних процесах.

В організмі людини вміст кальцію становить 20-25 г/кг безжирової маси тіла, що буде дорівнювати приблизно 1,4-1,6 % від загальної маси тіла людини. Нормою кальцію у сироватці крові становить 2,25-2,75 ммоль/л. Найбільший вміст кальцію знаходиться у кістках 98%, а 1-2% - це кальцій, який швидко перейти в рух, за потребою з якого половина біологічно активна, а решта з'єднана з білками, переважно альбумінами. Добовою нормою накопичення кальцію в організмі є один грам, з якого всмоктується приблизно 30% [3].

1.1.2. Роль фосфору в організмі людини

В навколишньому середовищі кальцій дуже близько до точки насичення фосфатів, що мають відхилення концентрації і можуть спричиняти преципітацію.

Внутрішньоклітинним, він служить передавачем у багатьох шляхах передачі сигналів, має сильний контроль, але в концентраціях які знаходяться на кілька порядків нище, ніж в позаклітинному. Так названого позаклітинного фосфору в організмі становить 1% від усього фосфору в організмі, так як він секвертується в кістках. Зробивши аналіз досліджень щодо фосфору та кальцію можна зробити висновок, що фосфор більш поширеніший ніж кальцій, і тому виконує різну біологічну функцію. Але більша частина фосфору знаходиться в кістках, який перебуває у вигляді гідроксипатиту, 18% якого розподілено між фосфопротеїнами, фосфоліпідами та нуклеїновими кислотами. Фосфор у крові перебуває у вигляді фосфатів (H_2PO_4 та HPO_4), але його вимірюють у вигляді фосфору. Регулюється на так як для кальцію так як відбуваються значні коливання через діету [4].

Фосфор відіграє ключову роль в обміні речовин та енергетичних процесах в організмі людини, входить до складу аденозинтрифосфату (АТФ), а також є важливим структурним компонентом кісткової тканини та зубів. Найпоширенішою причиною розвитку гіперфосфатемії є надмірне споживання фосфатів або недостатнє їх виведення з організму. Одним із пріоритетних завдань медицини є розробка ефективних сорбентів, які б були біологічно безпечними та нетоксичними, з метою регуляції концентрації фосфат-аніонів у біологічних рідинах організму, зокрема в контексті лікування пацієнтів із нирковою недостатністю [5].

Фосфорні сполуки є невід'ємною частиною живих організмів. Зокрема, у складі кісткової та зубної тканини фосфор присутній у формі апатитів. Найважливішими з них є гідроксипатит – $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (рис.1.1) [4].

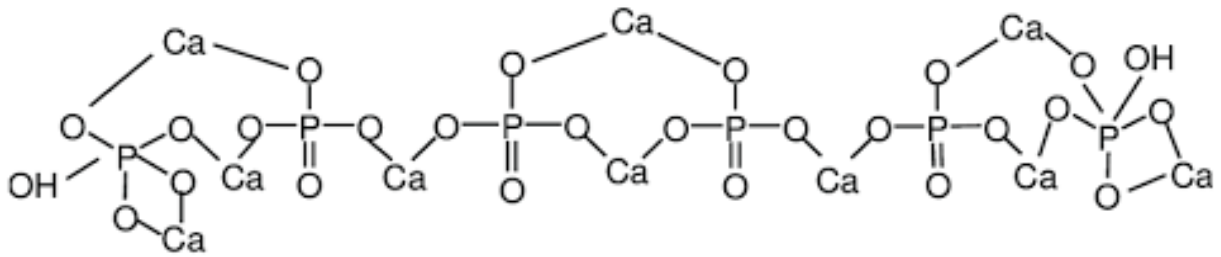


Рис.1.1 Формула гідроксиапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)

Також восьмикальцієвий фосфат – $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Окрім цих основних мінералів, у тканинах зубів виявляється також ряд інших апатитоподібних сполук.

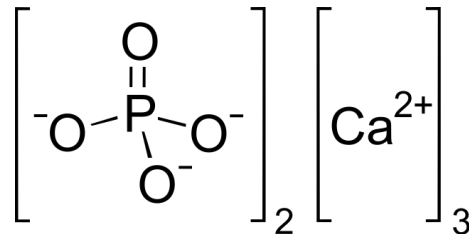


Рис. 1.2 Формула восьмикальцієвого фосфату ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

У ротовій порожнині фосфор також присутній у складі слини, де його концентрація становить приблизно 0,090 г/л. Однією з ключових функцій слини є підтримання кальцій-фосфатного гомеостазу у розчиненому стані в зонах можливого кристалоутворення. Це дозволяє запобігти їхньому мимовільному осадженню в порожнині рота. Фосфор також входить до складу аденозинтрифосфату (АТФ), який відіграє ключову роль в енергетичному обміні в організмі. АТФ є універсальним джерелом енергії для більшості біохімічних процесів, включаючи синтез ферментів та інші життєво важливі реакції. Фосфор у складі ортофосфатного залишку виконує функцію зв'язувального компонента та є одним із ключових елементів структури ДНК і РНК. Саме фосфатна група разом із дезоксирибозою формує зв'язки між нуклеотидами в полінуклеотидному ланцюзі [5]

1.2. Гормональна регуляція кальцієвого та фосфорного обмінів у організмі

Кальцій-фосфорний гомеостаз — це фізіологічний процес який забезпечує в організмі стабільність кальцію і фосфору (фосфатів) у крові, в органах та тканинах організму. Цей гомеостаз є одним з важливих функцій для підтримання життєвих процесів. Наприклад: мінералізація кісток та зубів, згортання крові, функціонує передачу нервових імпульсів, підтримує енергетичний обмін (через АТФ, що перебувають в молекулах фосфору), скорочує м'язи, зокрема серцевий м'яз. [6]

Фізіологія гомеостазу фосфатів та кальцію розуміння цього показника необхідне для лікування хвороби гомеостатичної системи. При порушенні метаболізму кальцію та фосфору є однією з найпоширеніших захворювань ендокринної системи. Вони включають в собі порушення двох мінералів у сироватці крові, особливу увагу отримує кальцій, розвиток кісток припиняється, та впливає на органи внутрішнього середовища (нирки, шлунок, паращитоподібна залоза) [7].

Кальцій в сироватці крові може мати високу концентрацію, як при запаленні чи злоякісних новоутворень, або при низькому вмісту гормони які регулюють кальці та фосфор [1].

Регуляцію кальцій-фосфорного гомеостазу підтримують завдяки чотирьох гормонів такі як: паратиреоїдний гормон (ПТГ), вітамін D, кальцитонін та фактор росту фібробласти 23 (FGF23) [8].

Транспорт деталей гормональної регуляції мінералів у кістках до кінця ще вченими не з'ясовано. Можна припустити, що паратиреоїдний гормон, вітамін D, кальцитонін, фібрилобласт 23, ці молекулярні механізми мають свій біологічний вплив на мембрани клітин, що транспортують білки [8].

Зміни концентрації мінералів у рідинах які знаходяться у позаклітинному середовищу, відображають внутрішньоклітинні зміни.

1.2.1 Паратгормон

Паратиреоїдний гормон (ПТГ) — речовина яка виробляється клітинами паращитовидної залози. Одною з основних його функцій є підвищення концентрації Са в плазмі крові [8].

Більшість своїх ефектів паратгормон опосередковується через рецептори ПТГрП1 (рецептор ПТГ1). Можна назвати, що цей рецептор є мембранним глікопротеїном з масою 90 000, що належить до рецепторів G-білка. Рецептор ПТГ розпізнає N-кінець , та гомологічний кінець білків, зв'язаного паратгормоном, з нечіткою спорідненістю, йому дали назву ПТГ/ПТГрП (Паратгормон-подібний пептид). Паратиреоїдний гормон (ПТГ) — це пептид, що складається з 84 амінокислот. Він виробляється паращитоподібними залозами, які розташовані на задній поверхні щитоподібної залози на шиї. ПТГ синтезується у вигляді препропептиду, який містить 115 амінокислот [5].

У сироватці крові кальцій зворотно впливає на секрецію ПТГ. Особливо це стосується ділянки кривої у вигляді S-подібної залежності, що відповідає нормальному діапазону концентрацій обох речовин. Іонізований кальцій пригнічує вироблення ПТГ, підвищуючи рівень внутрішньоклітинного кальцію за рахунок вивільнення з внутрішньоклітинних депо та надходження позаклітинного кальцію через мембрани та іонні канали. У більшості клітин, навпаки, підвищення кальцію стимулює секрецію, тому цей механізм є винятковим [8].

Паратгормон контролює рівень фосфору та кальцію в сироватці крові через взаємодію зі специфічними рецепторами, переважно в кістках. Його вплив на кісткову тканину є надзвичайно складним. При первинному або вторинному гіперпаратиреозі (надмірній секреції ПТГ) спостерігається підвищений рівень гормону, що стимулює остеокластну активність і, відповідно, руйнування кісткової тканини[5].

Паратгормон впливає на кісткову систему через остеобласти, які експресують рецептори до ПТГ. Остеобласти взаємодіють з остеокластами, що й зумовлює кістковий ефект ПТГ.

Вплив ПТГ на шлунково-кишковий тракт щодо засвоєння кальцію чи фосфатів є незначним. Однак він стимулює вироблення активної форми вітаміну D – 1,25-дигідроксивітаміну D₃ (кальцитріолу) у нирках, який вже опосередковує активне всмоктування цих мінералів у кишечнику.

У самих нирках ПТГ посилює реабсорбцію кальцію в дистальних звивистих каналцях і гальмує реабсорбцію фосфатів у проксимальних каналцях, що призводить до гіперкальціємії та гіпофосфатемії. Крім того, ПТГ знижує активність Na⁺/H⁺-антипортерів і реабсорбцію бікарбонатів, що спричиняє розвиток легкого метаболічного гіперхлоремічного ацидозу [9].

Більшість ефектів ПТГ опосередковується через рецептор ПТГ1 (PTH1R) – мембранний глікопротеїн масою близько 90 кДа, що належить до рецепторів, зв'язаних із G-білками. Цей рецептор розпізнає N-кінцеву ділянку гормону, а також гомологічні ділянки подібних білків, зв'язаних із ПТГ, тому його також називають рецептором ПТГ/ПТГрП (PTH/PTHrP).

Окрім цього рецептора, є рецептор ПТГ2, який активується ПТГ, але не ПТГрП і переноситься в мозок та підшлункову залозу. Для паратгормону карбокси-кінцевий пептид, опосередковує потік кальцію для ПТГрП було локалізуючу ядерну послідовність.

Деякі дослідження не мають прямого впливу фосфату у сироватці крові на секрецію ПТГ, про те є інші дослідження, що показують високий рівень фосфату збільшуючи синтез паратгормону і навпаки. Але фосфат має дію в сироватці крові зворотній вплив на концентрацію кальцію, а низький вміст фосфату в навколишньому середовищі безпосередньо збільшує 1,25-дигідроксивітамін. Тому можна зробити висновок, що фосфат в сироватці крові може прямо або опосередковано регулювати експресію паратгормона [11].

1.2.2 Кальцитонін

Кальцитонін – це пептидний гормон, що складається з 32 амінокислот. Його основна функція полягає в регуляції рівня кальцію в організмі: він здатний знижувати концентрацію кальцію в крові, зменшуючи його вивільнення з кісткової тканини. Основний ефект кальцитоніну – пригнічення резорбції кісток, яку здійснюють остеокласти [12].

Гормон кальцитонін синтезується С-клітинами (також відомими як парафолікулярні клітини) щитоподібної залози, а також деякими іншими ендокринними клітинами. Секреція кальцитоніну підвищується за умов гіперкальціємії (високого рівня кальцію в крові), що в свою чергу спричиняє гіпокальціємію. Навпаки, гіпокальціємія пригнічує секрецію кальцитоніну [13].

Регуляція кальцитоніну здійснюється через кальцієвий сенсорний рецептор (CaSR), подібно до механізму, який контролює секрецію паратиреоїдного гормону (ПТГ), однак кальцитонін активується при вищих концентраціях кальцію. Кальцитонін також може безпосередньо пригнічувати активність остеокластів, зменшуючи резорбцію кісткової тканини та знижуючи рівень кальцію в крові та реабсорбцію фосфору в нирках. Цей гормон індукує кальциурез та натрійурез. Кальциурез сприяє ефекту гіпокальціємії.

Кальцитонін активується через високоафінні рецептори кальцитоніну (ККТ). Ці рецептори належать до підродини рецепторів, зв'язаних із G-білками, і мають сім трансмембранних доменів. Вони здатні взаємодіяти з кількома пептидами та передавати сигнал усередину клітини. Рецептор кальцитоніну (ККТ) характеризується наявністю N-кінцевого домену, розташованого на позаклітинній поверхні мембрани, який бере участь у зв'язуванні самого гормону. Вітамін D – це гормон секостероїдного походження, який в організмі існує у двох основних формах: вітамін D₃ (ендогенного походження) та вітамін D₂ (екзогенного

походження). Холекальциферол (вітамін D₃) синтезується в шкірі з 7-дегідрохолестеролу під впливом ультрафіолетового випромінювання типу В (UVB). Крім того, вітамін D₃ може надходити в організм із пероральними добавками. Ергокальциферол (вітамін D₂) утворюється при ультрафіолетовому опроміненні ергостеролу – компонента, що міститься в рослинних продуктах і грибах. Обидві форми вітаміну D потребують подальшої активації: спочатку в печінці, де вони гідроксильються до 25(OH)D (кальцидіолу), а потім у нирках, де перетворюються на активну форму – 1,25(OH)₂D (кальцитріол). Метаболіти вітаміну D є жиророзчинними, тому транспортуються в крові у зв'язаному стані зі специфічними білками – насамперед із вітамін-D-зв'язувальним білком (DBP), який забезпечує їхню біодоступність і регуляцію [13].

Вітамін D потрапляє в організм із їжею або синтезується в шкірі під дією ультрафіолетового випромінювання. Для його активації необхідно пройти кілька етапів метаболічного перетворення. Ці шляхи однакові як для ендогенного (тваринного походження, вітамін D₃), так і для екзогенного (рослинного походження, вітамін D₂) вітаміну D. Співвідношення цих форм в організмі приблизно становить 1:2. У печінці вітамін D перетворюється на 25-гідроксивітамін D (25(OH)D, або кальцидіол) – це основна форма зберігання вітаміну D, яка накопичується в жировій тканині. Саме рівень 25(OH)D у сироватці крові є найточнішим показником загального забезпечення організму вітаміном D. Далі, у проксимальних каналцях нирок, під впливом ферменту 1-альфа-гідроксилази, 25(OH)D перетворюється на активну гормональну форму — 1,25-дигідроксивітамін D (1,25(OH)₂D, або кальцитріол). Це найактивніша форма вітаміну D, яка здійснює біологічну дію. Нормальні показники 1,25(OH)₂D у сироватці крові становлять 20–60 мг/мл. Також у нирках 25(OH)D може перетворюватися на 24,25-дигідроксивітамін D – метаболіт, який вважається менш активним. Хоча раніше його вважали продуктом розпаду без біологічної ролі, сучасні

дослідження припускають можливий вплив цього метаболіту на внутрішньоклітинні процеси, зокрема на функцію мембран. Вітамін D реалізує свою біологічну активність через гормональний рецептор – VDR (від англ. *Vitamin D Receptor*). Цей ядерний рецептор взаємодіє з різними метаболітами вітаміну D, з яких найвищу спорідненість до нього має 1,25-дигідроксिवітамін D (1,25(OH)₂D). Рецептор VDR регулює транскрипцію генів шляхом утворення димерів – як гомодимерів, так і гетеродимерів, зокрема з рецептором ретиноєвої кислоти (RXR). Утворений комплекс зв'язується зі специфічними ділянками ДНК (VDRE – *Vitamin D Response Elements*), регулюючи транскрипцію генів, відповідальних за обмін кальцію та інші біологічні функції вітаміну D. Окрім цього, деякі метаболіти вітаміну D можуть діяти через мембранозв'язані рецептори, викликаючи швидкі негеномні ефекти, зокрема зміни у клітинному потоці кальцію. У деяких випадках ці зміни можуть спричиняти патологічні реакції, однак це питання все ще досліджується. [13].

1.2.4 FGF23 (фактор росту фібробластів 23)

Це пептидний гормон, що складається з 251 амінокислоти. Він синтезується остеоцитами – сплющеними клітинами, які вистеляють кісткову тканину. Основна функція FGF23 – регуляція фосфатного обміну. Цей гормон знижує експресію котранспортерів фосфату Npt2a та Npt2c у ниркових каналцях, що призводить до зменшення реабсорбції фосфору та підвищення його виведення з сечею (фосфатурія). Крім того, FGF23 знижує рівень активної форми вітаміну D – 1,25-дигідроксिवітаміну D (1,25(OH)₂D), переважно шляхом пригнічення ферменту 1-альфа-гідроксилази. Вважається, що цей процес регулюється через взаємодію з рецептором вітаміну D, хоча точний механізм чутливості до рівня фосфору залишається недостатньо вивченим. Підвищення рівня FGF23 є маркером хронічних захворювань нирок. Його концентрацію можна визначити в сироватці крові за допомогою

аналізу на С-кінцевий фрагмент гормону. Окрім цих чотирьох основних кальцевічних гормонів, існують гормони які відіграють важливу роль у механізмі кальцію та фосфору, в більшості вони підтримують скелет (ті які пов'язані із кальцієм та фосфором). У біологічних процесах фосфор вирішує різноманітну роль в організмі людини, тому баланс фосфору має одну з ключових значень. Концентрація неорганічного фосфору в навколишньому середовищі може виконувати роль «датчика», який спричиняє зміни в клітинних функціях, впливаючи на ефективність використання або збереження фосфору в організмі. Пострандіальні (після прийому їжі) короткострокові реакції, що виникають незалежно від дії гормонів, вважаються важливими для підтримання сталого рівня фосфору. Ці механізми можуть відігравати значну роль у регуляції фосфатного гомеостазу — навіть більшу, ніж раніше припускалося. Гормони та регуляторні фактори, паратиреоїдний гормон, фосфатоніни та вітамін D серед інших гормонів, вони відіграють роль тільки в довгостроковій регуляції сталості фосфатів [10].

Одна з головних біологічних ролей фосфору є клітинна функція, що включає метаболізм нуклеїнових кислот та синтез АТФ, сигналізацію клітин, цілісність клітин, активність ферментів, функцію м'язів, мвнерелізацію кісток та ліпідний метаболізм. Наявність фосфору є практично в кожній рідені організмі. У сироватці крові та плазмі у людському організмі перебувають у вигляді неорганічному фосфору або фосфатів які будуть коливатися від 90 до 150 мг/л концентрація неорганічного фосфату становить - від 25,7 до 41,7 мг/л (воно коливається з віком) [14].

Враховуючи широке поширення фосфору та одну з життєво важливих клітинних процесах. Дефіцит фосфору призводить до захворювань клінічного характеру, прикладом є м'язова слабкість, порушення роботи лейкоцитів аномальна мінералізація кісток [15].

1.4.Механізм впливу диетилфталату га організм.

Диетилфталат (ДЕФ) – це безбарвна, без запаху, масляниста рідина, яка широко використовується для подовження збереження аромату, кольору та гнучкості полімерних матеріалів. Основними сферами застосування ДЕФ є косметична промисловість (лаки для волосся і нігтів, парфуми, мило, лосьйони), промислові матеріали (ракетне паливо, герметики, мастила), а також фармацевтична галузь (покриття таблеток) [3].

Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям ДЕФ легко переходить у повітряне середовище, тому може безперешкодно потрапляти в організм людини. Враховуючи широке поширення цього фталату у повсякденному житті, його надходження можливе не лише через інгаляцію, а й шляхом перкутанного проникнення (через шкіру) або перорального споживання [8].

Після потрапляння в організм ДЕФ метаболізується до **моноетилфталату (МЕФ)**, який вважається основним метаболітом і на сьогодні є найчутливішим біомаркером експозиції до ДЕФ, виявленим у сечі. Згодом фталати вимиваються з матеріалів, у складі яких вони присутні, та потрапляють у довкілля, потенційно завдаючи негативного впливу на здоров'я людини [8].

Фталати – це діестери фталевої (1,2-бензолдикарбонової) кислоти, які у промисловості виробляються у значних обсягах для надання пластифікуючих властивостей полімерним матеріалам. Вони відрізняються між собою за структурною будовою та молекулярною масою, що визначає їх фізико-хімічні характеристики. Різноманітність фталатів залежить від довжини та ступеня розгалуження вуглеводневих ланцюгів [16].

Фталати поділяються на дві основні групи:

- **Низькомолекулярні фталати** (3–7 атомів вуглецю в алкільному ланцюзі): диметилфталат (DMP), диетилфталат (ДЕФ), дибутилфталат (DBP);
- **Високомолекулярні фталати** (8–13 атомів вуглецю): діізонанілфталат (DINP), диізодецилфталат (DIDP), ді(2-етилгексил)фталат (DEHP).

Високомолекулярні фталати переважно використовуються у виробництві побутових і промислових товарів (дроти, кабелі, покриття для підлоги та стін, плівки), тоді як низькомолекулярні – у косметиці, засобах особистої гігієни, фармацевтичній упаковці та медичних виробках. [16].

Враховуючи, що ДЕФ є одним із найбільш поширених фталатів, який широко застосовується у виробництві товарів для щоденного використання, вивчення механізмів його впливу на організм людини є актуальним.

Згідно з даними Наукового комітету з ризиків для здоров'я та навколишнього середовища (SCHER, 2008), основними шляхами надходження фталатів є:

- споживання забруднених продуктів харчування,
- інгаляція повітря або пилу,
- абсорбція через шкіру.

У організмі фталати метаболізуються в результаті дії ферментів I та II фаз біотрансформації:

- **Фаза I** передбачає гідроліз за участю ліпаз та естераз кишечника і паренхіматозних органів, що веде до утворення біологічно активних моноєфірів;
- **Фаза II** – кон'югація з глюкуроною кислотою з утворенням водорозчинних, біологічно неактивних метаболітів.

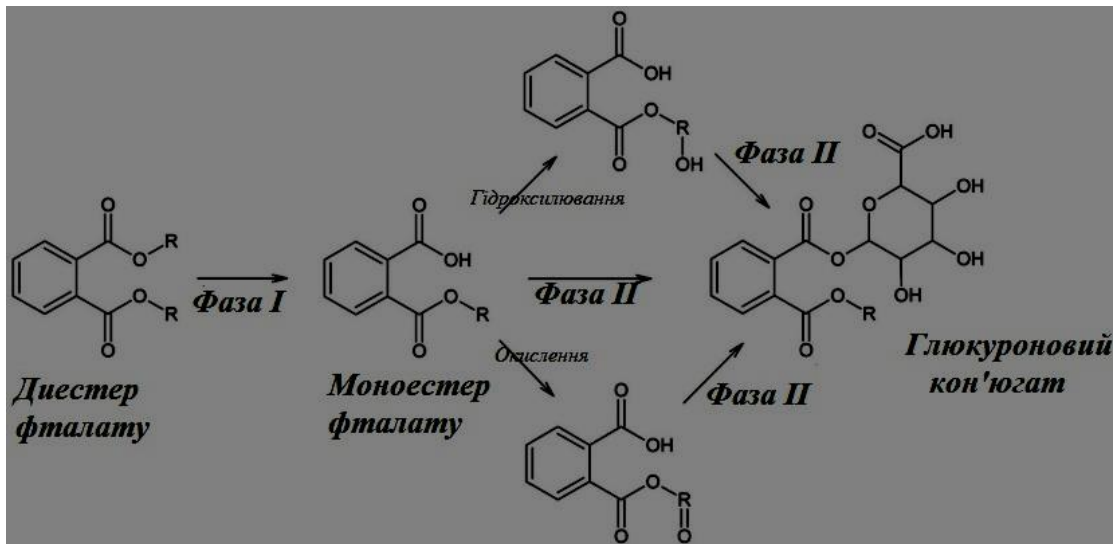
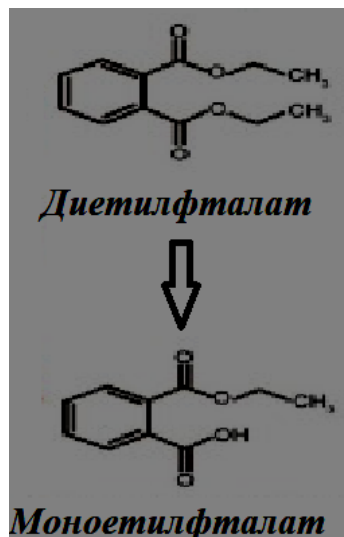


Рис.1.4. Загальна схема метаболізму фталатів у організмі

Фаза II метаболізму включає реакцію кон'югації, під час якої фермент 5-УДФ-глюкуронілтрансфераза каталізує приєднання глюкуронової кислоти до моноестеру фталатів, утворюючи біологічно неактивний глюкуронід. Отримані метаболіти фталатів елімінуються з організму переважно з сечею та калом. Встановлено, що низькомолекулярні фталати зазвичай виводяться після гідролізу (фаза I), тоді як для високомолекулярних сполук характерна елімінація після проходження фази II метаболізму. [8].

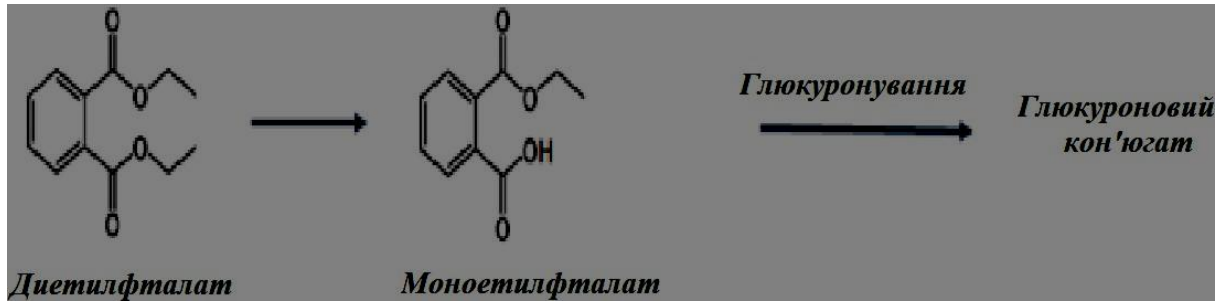
Метаболіти фталатів виявляються у сечі дітей (281 нг/мл), крові (41 нг/мл) та грудному молоці (143 нг/мл). В організмі фталатні ефіри зазнають швидкої метаболізації до моноестерів, після чого окиснені метаболіти



елімінуються із сечею як у вільній формі, так і у вигляді глюкуронідних кон'югатів. Метаболізм ДЕФ, як правило, включає швидку деестерифікацію з утворенням моноестерів, зокрема МЕФ (рис. 1.6) [8].

Рис.1.5. Схема гідролізу диетилфталату з утворенням моноетилфталату

Утворений МЕФ здатен легко елімінуватися з організму, що дає змогу оцінити вплив ДЕФ шляхом аналізу його концентрації в сечі. У процесі подальшої біотрансформації з ДЕФ формується глюкуронід (рис. 1.7).

**Рис.1.6. Біотрансформація диетилфталату в організмі**

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проводили на 30 білих лабораторних щурах масою 180–200г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію, що був збалансований за всіма необхідними макро- та мікроелементами, з постійним доступом до питної води.

Усі умови утримання тварин і проведення маніпуляцій відповідали вимогам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також нормам «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001).

Тварини були поділені на три групи :

I група – інтактні щури, не зазнали впливу дії ДЕФ і слугували контрольною групою.

II група - щури, яким вводили ДЕФ у дозі 2,5 мг на кілограм маси тіла.

III група - щури, які отримували ДЕФ у дозі 5,4 мг на кілограм маси тіла.

Ксенобіотик вводили тваринам перорально щодня протягом 21 доби.

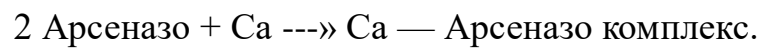
Евтаназію експериментальних щурів здійснювали під дією легкого ефірного наркозу на 14-й та 21-й день після початку введення ДЕФ. Кров відбирали в щурів із сонної артерії, під час того як тварини перебували в наркозі. Відібрану кров центрифугували по 15 хвилин. Після закінчення часу центрифугування відібрали сироватку крові підписали та помістили до морозильної камери .

Визначення вмісту кальцію в сироватці крові.

Принцип методу:

Для визначення кальцію в сироватці крові використали кількісний метод за допомогою Кальцій Арсеназного набору реагентів, принцип якого полягає в реакціями між іонами кальцію і елементом таким як арсеназ (в більшості

випадків використовують арсеназ III). Арсеназом називають органічний барвник. При взаємодії кальцію та арсеназом розвивається насичене забарвлення, яке прямо пропорційне концентрації кальцію. Протікання цієї реакції відбувається у слаболужному середовищі. Де реакція утворює стійкий комплекс з барвником який має забарвлення синє чи фіолетове. Таким чином, абсорбція (оптична щільність) при вирахованій довжині хвилі дозволяє визначити рівень кальцію в сироватці крові. Співмірність барвника (синьо-фіолетове) та кальцію для утворення структури, перша частина зразка на 100 частин реагенту Зміна поглинань при 600 нм прямо пропорційна концентрації в зразку [17].



Хід аналізу

В роботі використовували такі реагенти як : Арсеназ 3: приблизно 0,17ммоль/л, 8 - гідроксіхінолінсульфонат в дозі 5 ммоль/л, а також сурфактант та буфер.

Приготування цих реагентів не потребується так як вони вже готові до використання.

Стабільність закритих реагентів зберігається протягом всього терміну придатності при кімнатній температурі. Основне правило НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ.

Вигляд непридатних для аналізу реагентів - це каламутність яка вказує на погані властивості реагенту і є ознакою забруднення.

Підготовка та збір зразків сироватки крові проводилися за декількома пунктами.

1. Для роботи такі речовини як сироватка та плазма підходить краще ніж інші речовини. Але щоб використати ці речовини потрібно дотримуватися деяких правил: не можна використовувати плазму яка містить оксалати, цитрати або ЄДТА. Також не рекомендується брати

для дослідження цільну та гемолізовану кров. Кращий результат показує на свіжіжо отриманій сироватці крові.

2. Використовують спеціальні пробірки з інертних матеріалів та виконували роботу за інструкціями виробника.
3. Неналежний зразок , який містить осад слід відцентрифугувати перед використання в аналізі.
4. Стабільність така як : свіжа плазма досліджується відразу.

Для сироватки є певні межі:

- 7 днів при температурі зберігання 20-25 °С;
- 3 тижні при температурі зберігання 4-8 °С
- 8 місяців при температурі зберігання - 20 °С

При ознайомленні із автоматичною роботою аналізатора переходять до ручного покрокового аналізу:

1. Помітивши пробірки на групи (контроль, 14 доба та 21 доба).
2. Помістити по 1,0 мл реагенту в кожен пробірку.
3. Додати по 0,01 мл зразка у пробірку та перемішати.
4. Залишити протягом 1 хвилини при кімнатній температурі.
5. Налаштувати спектрофотометр.
6. Аналіз готується в межах 60 хвилин.

Визначення вмісту фосфору в сироватці крові.

Принцип методу:

Для визначення фосфору в сироватці крові використали прямий метод визначення неорганічного фосфату. Фосфат утворює взаємодії з молібдатом амонію в кислому середовищі з утворенням профарбованого в жовтоватий відтінок фосфомолібденового комплексу, максимум поглинання якого при 340 нм поглинає 340 нм. Поглинання довжин хвилі прямо пропорційні неорганічного фосфору в зразку [18].

Хід аналізу

Склад реагентів включає такі речовини як : молібдат амонію 0,40 ммоль, сірчана кислота 210 ммоль, а також сурфактант. Також в наборі знаходився калібратор фосфору (стандартний розчин фосфату) 5 мг/л.

Потрібно враховувати те, що сірчана кислота викликає опіки шкіри та пошкодження слизової очей.

Для підтримання роботи реагентів дотримуються певних правил, всі компоненти придатні до роботи протягом всього терміну зберігання. Зберігають його щільно закритим, при низьких температурах 2-8 °С, в темному та чистому місці. Після закінчення терміну придатності реагент використовувати не можна.

Після відкриття калібратора фосфору дозволяється зберігати до 1 місяця в щільно закритому флаконі при низькій температурі та в темному місці. Калібруючий фосфор потрібно тримати в чистоті та не допускати до забруднення. Реагенти які призводять до зносу ознак це – мутний розчин, показник абсорбції при 340 нм більший або дорівнює 0,54.

Так як фосфор може міститися не тільки в сироватці крові, а також в сечі тому зразки повинні бути: без гемолізу, сироватка чи плазма повинна бути якомога швидко виділена, щоб уникнути підвищення фосфору в сироватці в результаті витоку фосфору, що міститься в еритроцитах.

Стабільність для зразків становить 7 днів при температурі 2-8°C;

Крім основного обладнання для аналізу використовую додаткове обладнання- це кювети 1,0 см , загальне лабораторне обладнання.

Після автоматичної роботи, переходимо на ручну роботу яку можна перерахувати послідовними пунктами:

1. Підписуємо пробірки (контроль, 14 доба, 21 доба).
2. Внести по 1,0 мл реагенту в пробірки. Та залишити при кімнатній температурі.
3. Внести по 0,02 мл зразка у спеціальні пробірки, перемішайте та залишити на 5 хвилин.

4. Виставити бланк по дистильованій воді.
5. Налаштовуємо аналізатор.
6. Аналіз готується 80 хвилин.

Характеристика цього методу полягає в діапазоні вимірювання від виявленого 0,0020 мг/л до лінійності 35 мг/л. Якщо результат перевищує межу лінійності, потрібно розвести зразок NaCl (10 г/л) в співвідношенні 1:2 та помножити на 2.

Статистична обробка результатів

Отримані результати аналізували з використанням методів варіаційної статистики у програмі Microsoft Excel із застосуванням t-критерію Стьюдента.

Для обробки цифрових даних, отриманих у ході біохімічних експериментів, було проведено математичний аналіз, що дозволило визначити рівень статистичної достовірності отриманих результатів.

Імовірність статистичної похибки при оцінці результатів експерименту визначали за допомогою «Таблиці t» Стьюдента. У біохімічних дослідженнях достовірними вважають результати, для яких $p \leq 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При постійному введенні фталатів, які широко застосовуються як пластифікатори і входять до складу великої кількості побутових товарів, зокрема дитячих іграшок, косметичних засобів, пакувальних матеріалів для харчових продуктів, медичних виробів (систем для переливання крові), вони негативно впливають[4].

Через те, що фталати не утворюють хімічних зв'язків із полімерною основою, вони легко вивільняються з матеріалів, випаровуються у повітря, а також мігрують у продукти харчування, напої та питну воду – найчастіше з упаковки, але також і з інших джерел, зокрема промислових викидів [19].

Зміна концентрації кальцію в сироватці крові можуть свідчити про розвиток паталогічних змін в організмі. ДЕФ є біологічно активною речовиною, яка швидко зазнає метаболізму в нирках чи печінці з утворенням моноєфірних метаболітів. Ці метаболіти можуть негативно впливати на функціональний стан печінкових клітин та тканинних макрофагів, що, у свою чергу, здатне порушувати процеси синтезу білків плазми крові у відповідь на надходження ксенобіютика в організм [16].

При впливі ДЕФ активність ферментів знижується, вітамін D активується в печінці та нирках. Це призводить до зменшення засвоєння кальцію та фосфору в кишечнику. Одночасно нефротоксична дія сполуки сприяє надмірному виведенню фосфатів із сечею. У відповідь на зниження рівня кальцію посилюється секреція паратгормону, що додатково погіршує фосфорний баланс. Подібні зміни особливо критичні в періоди активного росту, вагітності або лактації, оскільки призводять до порушень мінерального обміну й кісткової тканини [19].

Аналіз проведених досліджень результати показав, що при введенні ДЕФ піддослідним тваринам в дозі 2,5 мг/кг маси тіла протягом 14-и діб не спостерігалось достовірних змін вмісту кальцію в сироватці крові щурів в порівнянні з показником контролю (рис. 3.1).

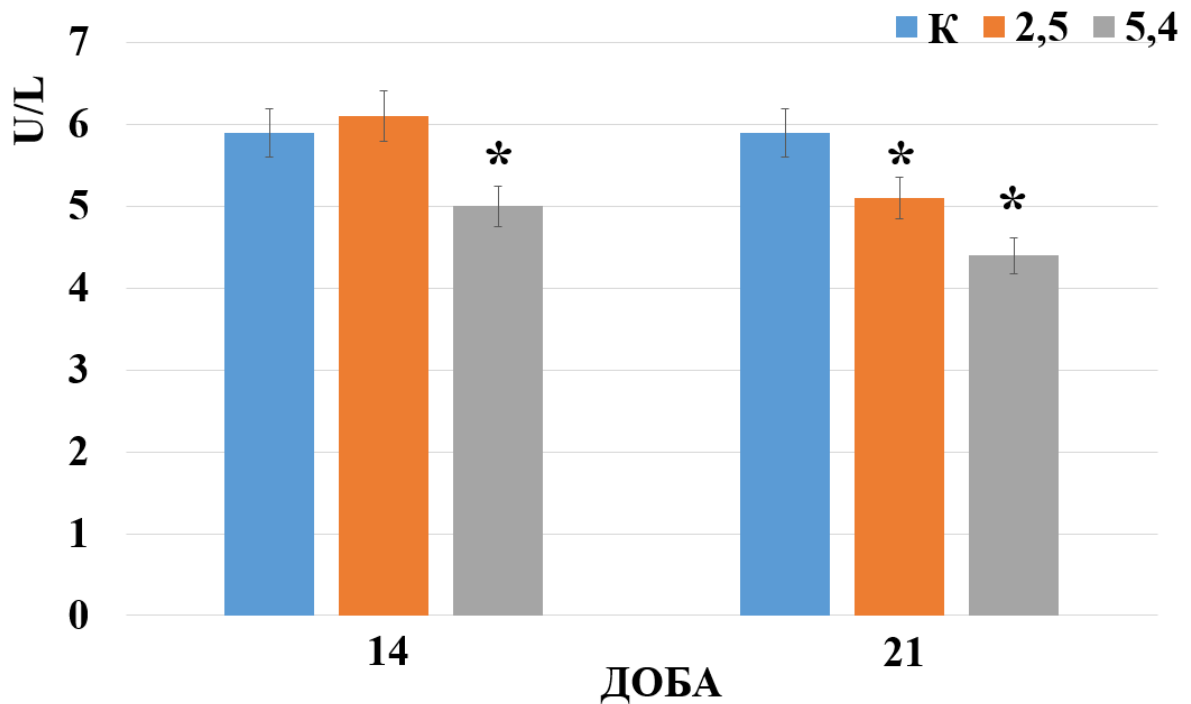


Рис.3.1. Вміст кальцію в сироватці крові після введення диетилфталат
*Примітка (тут і надалі): *- статистично достовірна різниця порівняно з показниками інтактних тварин (контролю), $p \leq 0,05$.*

Водночас при введення ДЕФ в дозі 5,4 мг/кг протягом цього періоду спостерігалось зменшення вмісту кальцію в сироватці крові тварин в 1,3 рази в порівнянні з інтактними тваринами (рис.3.1).

З цих результатів можна зробити висновки, що ДЕФ у дозі 2,4 мг/кг протягом певного часу в нашому випадку два тижні є малотоксичним на організм тварин. Тоді як введення високої дози ДЕФ 5,4 мг/кг на 14-у добу показало негативний вплив на організм.

При подальшому введенні досліджуваних доз ДЕФ виявлено, що на 21-у добу експерменту у сироватці крові знижувався вміст кальцію в обох досліджуваних групах. Так при введенні дози 2,5 мг/кг спостерігалось зниження вмісту кальцію у 1,3 порівняно з показником контролю(рис.3.1).

При введення дози 5,4 мг/кг виявлено суттєвіше зменшення кальцію в сироватці крові, що в 2,5 рази було нижче відповідного показника контролю (рис.3.1).

Імовірно, в результаті тривалого введення ДЕФ на організм в піддослідних тваринах спостерігалася токсична дія, що сприяло зниженню кальцію при введенні високої дози (5,4 мг/кг), та призвело до розвитку гіпокальціємії. Основним органом при виведенні диетилфталата є нирки. Однією із причин розвитку гіпокальціємії є вимивання кальцію з неорганічними речовинами. Зниження кальцію в сироватці крові може бути наслідком порушення роботи нирок, гормональної активності та дисфункції печінки. Причини стрімкого виведення кальцію із сечею при токсичному впливі DEP викликає пошкодження ниркових каналців. Іншою можливою проблемою дії ДЕФ може бути вплив на ендокринну систему організму на зниження рівня кальцію (рис.3.1). Організм при дії на такий гормон як паратгормон (ПТГ) або кальцитонін. Ці гормони є критично важливі для балансу кальцію в організмі [20].

Отже, в ході нашого експерменту було виявлено, що ДЕФ впливає на зміну вмісту кальцію в крові.

Паралельно нашими дослідженнями виявлені зміни рівня фосфору. Результати визначення рівня фосфору у сироватці крові тварин показали його підвищення на 14-у добу введення диетилфталату в організм щурів лише у групи тварин яким вводили ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг - в 1,6 рази (рис. 3.2).

Підвищення вмісту фосфору у сироватці крові може вказувати на порушення функцій внутрішніх органів, таких як печінка, ендокринна система та нирки. Вплив ДЕФ може спричиняти пошкодження клітин печінки та м'язових тканин, внаслідок чого фосфор, який знаходиться у внутрішньоклітинному середовищі, вивільняється у кров та міжклітинний простір. В процесі порушення роботи печінки фосфор виходить в організм коли його місце знаходження є в клітинах так як основна функція фосфору полягає в синтезі АТФ. Але в більшості фосфор перебуває в кістках та зубах. Впливає на ендокринну систему,також порушується робота паратгормона або

вітаміна D. Підвищеному показнику фосфору в сечі може свідчити про це хронічну недостатність нирок [21].

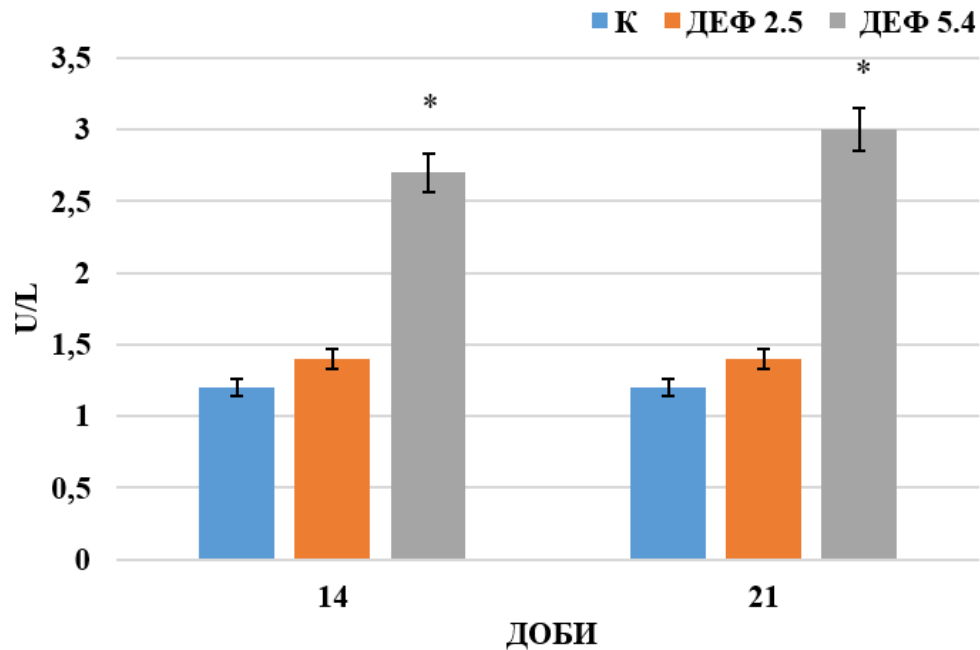


Рис. 3.2 Вміст фосфору в сироватці крові після введення диетилфталату

В подальше введення ДЕФ на 21-у добу призвело до суттєвішого збільшення вмісту фосфору в сироватці крові. Так при введенні дози 2,5 мг/кг спостерігалось, підвищення вмісту фосфору у 1,6 рази порівняно з показником контролю (рис. 3.2). При введенні ДЕФ у дозі 5,4 мг/кг спостерігалось збільшення вмісту фосфору в сироватці крові тварин у 2,2 рази порівняно з контролем (рис 3.2).

Імовірно, при тривалому введенні ДЕФ в організм піддослідних тварин виявляється його токсична дії особливо, при введенні різних доз 2,5, 5,4 мг/кг. Ці зміни можуть бути пов'язанні з утворення більш токсичних метаболітів ДЕФ.

Причиною цього може слугувати порушення процесу всмоктування, а також порушення функціонування нирок.

DEP має вплив на зміну фосфорного гомеостазу. Відповідають за цей механізм нирки, які відповідають за реабсорбцію та виведення фосфору з організму. Деатилфталат має токсичну дію, що може призводити до

нефротоксичних змін (зниження гуморальної фільтрації), що призводить до - гіпофосфатемії або гіперфосфатемії, залежить від ступеня ураження [21].

Моноетиловий метаболіт (МЕФ) – спричинений метаболізмом диетилфталата призводить до печінкової дисфункції. Він має вплив на синтез та активацію вітаміну D, особливий вплив має на кальцетонін. При зниженні роботи вітаміну D здатність кишечника до ефективного всмоктування фосфору в кишечнику, призводить до зниження фосфорного рівня у крові [22].

Отже, введення ДЕФ протягом двох тижнів призвело до поступового збільшення рівня фосфору в сироватці крові тварин, в порівнянні з контролем. При введенні трьох тижнів ДЕФ в організм тварин спостерігаємо все ще підвищення що свідчить про токсичну дію ДЕФ.

ВИСНОВКИ

1. За умов тритижневого введення різних доз ДЕФ виявлено зниження рівня кальцію в сироватці крові щурів, яке більшою мірою виражено за дій високих доз ДЕФ (5,4 мг/кг маси тварин).
2. По мірі збільшення дози та терміну введення в організм ДЕФ виявлено збільшення вмісту фосфору , яким ксенобіотик вводили в дозі 5,4 мг/кг маси тварин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аряєв М. Л., Лотиш Н. Г., Капліна Л. Є., Павлова В. В., Коропець В. В., Головенко І. В. та ін.. Клінічний випадок сімейного гіпофосфатемічного рахіту у дитини, 2024. С.42-48.
2. Воробієнко А., Плиська О., & Шкробанець І. Статеві особливості реакції клітинного та гуморального імунітету у щурів. бессерівські природознавчі студії, 2024. С.12-42.
3. Тонюк С., Кеца О., Марченко М. Роль диетилфталату в ініціації утворення основ шиффа у мікросомній фракції печінки щурів. науковий вісник чернівецького університету. біологія (біологічні системи), 16(2 (спеціальний)), 2024. 190-193.
4. Банарь І., Кеца О. Інтенсивність окисно-відновних процесів в оксигеназному та редуктазному ланцюгах монооксигеназної системи печінки щурів з дії диетилфталату. науковий вісник чернівецького університету. біологія (біологічні системи), 2024. 16(2 (спеціальний)), 178-181.
5. Д. П., Бондарчук Т. І., Іванків О. Л. та ін. (ред. О. Я. Склярів), «Клінічна біохімія», роль фосфору в АТФ, метаболізмі, тканинах; також наведені значення концентрації фосфору (125-222с.)
6. Shkempi B., Huppertz T. Calcium absorption from food products: Food matrix effects. *Nutrients*, 2021. 14(1), 180
7. Matasar I., Petrishchenko L., Matasar T., Moyseyenko V. The role of macroelements calcium and phosphorus in the nutritional status of patients with age changes in kidneys living in territories radioactively contaminated due to the ChNPP accident. *Actual Problems of Nephrology* 2021., (28), 10–17
8. Кубашко А. В., Герцюк М. М., Деєв, В. А. Фталати—питання біотоксичності щодо організму людини. *Український медичний часопис*, 2018. (1 (2)), 7-14.

9. Калашніков О. О., Усенко О. Ю., Тодуров І. М., Орлик О. С., Гриневич А. А. Вторинний гіперпаратиреоз та недостатність вітаміну D у пацієнтів після лапароскопічної рукавної резекції шлунка. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина», 2024. (1 (69)), 16-23.
10. Shaker J. L., Deftos L.. Calcium and phosphate homeostasis. 2023 6-42.
11. Martin A., Davi, V., Quarles L. D. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiological Reviews*, 2012. 92(1), 131–155.
12. Rehak, N. N., Chiang, B. T., & Rehak, N. N. Biochemical composition of human saliva in relation to other body fluids. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2022. 38(3), 237–243.
13. Kaminskiy O. V., Kopylova O. V., Afanasyev D. E., Chikalova I. G., Muraviova I. G., Tsvet L. O., Dombrovska N. та ін. Sdiagnostic and clinical aspects of normocalcemic parathyroid hyperplasia and non-renal secondary hyperparathyroidism in exposed and non; exposed to ionizing radiation individuals (literature review and own research data). *Problemy radiatsiinoi medytsyny ta radiobiolohii*, . 2024. (29), 44-66.
14. Boyarchuk O., Hlushko K., Dobrovolska L., Hrekh A., Savuliak Y., Vorontsova T., Volianska L. та ін. Статус вітаміну D, кальцію та фосфору у дітей із spina bifida. 2024. 22-32
15. Cogbill, J. (n.d.). *Nucleotide and nucleic acid metabolism*. In *Biological Sciences*. Bookdown. 2023. 10-21
16. .Messenger S. W., Falkowski M. A., & Groblewski G. E. Ca²⁺-regulated secretory granule exocytosis in pancreatic and parotid acinar cells. *Cell Calcium*, 2014. 55(6), 369–375

17. Gospodarenko, G. M., Prokopchuk, I. V., & Prokopchuk, S. V. Symbiotic nitrogen-fixing ability of chickpea and crop productivity under different fertilization. *Agricultural Microbiology*, 2017. (25), 25-30
18. Linus Pauling Institute. (n.d.). *Phosphorus*. Oregon State University. 2023. 11-31
19. David R. M., Moore M. R., Finney D. C., & Guest D. Chronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Toxicological Sciences*, 2022. 55(2), 433-443.
20. King J. D., & King A. J. *Phosphate metabolism*. In J. T. DiPiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, & L. M. Posey (Eds.), *StatPearls*. StatPearls Publishing. 2023.
21. Liu Y., Lin Y., Song X., Li Z., & Li CMEHP induces ferroptosis in hepatocytes through mitochondrial oxidative stress. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* . 2022.

ДОДАТКИ

Додаток А

Охорона праці та безпека у надзвичайних ситуаціях

Дозволяється працювати лише на заземлених об'єктах.

Приміщення хімічних лабораторій обладнуються вентиляцією, а місця можливого накопичення шкідливих хімічних речовин – відсмоктувачами.

Підлоги лабораторій повинні мати рівну, неслизьку, зручну для очищення поверхню, бути стійкими до дії механічних навантажень, вологи і агресивних середовищ.

Кожен працівник у лабораторії повинен мати закріплене за ним робоче місце.

Перед початком роботи слід одягти спецодяг (халат).

У спецодязі забороняється знаходитись за межами лабораторії.

При можливості скляний посуд і скляні частини замінюють пластиковими.

Нагріваючи рідину в пробірці або інших посудинах, їх тримають спеціальними утримувачами так, щоб отвір був спрямований від себе і працюючих поруч.

При перенесенні посудин із гарячою рідиною користуються рушником, посудину при цьому тримають обома руками: однією за дно, а другою за горловину.

При переливанні рідин (крім тих, що містять біологічний матеріал) користуються лійкою.

При розведенні речовин, що супроводжуються виділенням тепла, користуються термостійким хімічним посудом.

При роботі з кислотами та лугами виконують такі заходи безпеки:

- усю роботу з концентрованими кислотами та лугами проводять у витяжній шафі, користуючись при цьому окулярами, гумовими рукавичками та фартухом;
- концентровану кислоту відбирають із посудини тільки за допомогою спеціальної піпетки з грушею або сифоном;
- при приготуванні розчинів кислот спочатку в посудину наливають необхідну кількість води, а потім додають кислоту. Забороняється додавати воду в кислоту;
- при приготуванні розчинів лугів наважку лугу опускають у велику широкогорлу посудину, заливають необхідною кількістю води і старанно перемішують. Шматки лугу варто брати тільки щипцями;
- концентровані кислоти і луги виливають у раковину після попередньої їх нейтралізації.

При роботі з легкозаймистими речовинами (ефір, бензин, бензол, ацетон, спирт та ін.) дотримуються такої вимоги:

- усі роботи проводяться у витяжній шафі при ввімкненій вентиляції, вимкнених газових пальниках і нагрівальних електроприладах.

Категорично забороняється:

- доручати проведення робіт із вогненебезпечними речовинами недосвідченому співробітнику;
- під час роботи в приміщенні запалювати сірники, палити, включати прилади, при роботі яких може виникнути іскра.

Після закінчення роботи із шкідливими речовинами необхідно:

- привести в порядок робоче місце;
- залишки шкідливих речовин здати на зберігання;
- старанно вимити руки з милом.

Забороняється використовувати речовини без етикеток та із закінченим терміном зберігання;

Після закінчення роботи необхідно вимити та висушити посуд, прибрати робоче місце, провітрити приміщення, відключити всі нагрівальні та освітлювальні прилади, закрити водопровідні та газові крани.

Категорично забороняється працювати в лабораторії одному.

Виходячи з лабораторії, обов'язково перевірити, чи вимкнені газ, вода, електроенергія.

Додаток Б**Надання першої медичної допомоги**

При виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно вимкнути газ та нагрівальні прилади, прибрати легкозаймисті рідини, вогонь засипати піском. Великий вогонь гасять за допомогою вогнегасника. Не можна задувати палаючу рідину або заливати її водою. Якщо на людині палає одяг, її треба швидко закутати в ковдру, халат або покласти на підлогу і, перекочуючи, збивати полум'я.

У всіх лабораторіях у доступному постійному місці має бути аптечка з набором необхідних матеріалів і медикаментів.

При теплових опіках роблять примочку з розчином 2 %-го KMnO_4 , а потім наносять мазь від опіків.

При хімічних опіках шкіри необхідно насамперед видалити речовину, що викликала опік, відповідним розчинником, а потім уражену ділянку обробити етиловим спиртом і змастити маззю від опіків.

При опіках кислотами ушкоджене місце обмивають водою з крану, а потім 3 % вим розчином натрій гідрогенкарбонату (питної соди); при опіках їдкими лугами – водою, а потім 2 %-вим розчином оцтової або борної кислоти і знову водою.

При опіках очей кислотою необхідно промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у розчині питної соди, і знову змити водою; при опіках очей лугом – промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 2 %-му розчині борної кислоти, і знову промити водою. Після цього необхідно звернутись до лікаря.

При порізах склом у першу чергу необхідно пінцетом, попередньо промитим спиртом, видалити з рани видимі шматочки скла, рану промити дистильованою водою або протерти тампоном, змоченим в етиловому спирті,

а далі змастити 5 %-вим розчином йоду та забинтувати. Невеликі порізи можна заклеїти антисептичним пластиром.

При ураженні електрострумом насамперед необхідно відключити електроенергію, а потім, якщо необхідно, зробити штучне дихання та викликати швидку допомогу.

При інгаляційних ураженнях потрібно негайно вийти на свіже повітря.