

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

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

**АКТИВНІСТЬ ЦИТОХРОМОКСИДАЗИ В МІТОХОНДРІЯХ
ГЕПАТОЦИТІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ
АЦЕТАМІНОФЕНОМ ТА ВПЛИВУ ЕТАНОЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ
ГРИБА *HERICIUM ALPESTRE***

**Кваліфікаційна робота
Рівень вищої освіти - перший (бакалаврський)**

Виконала:

студентка 4 курсу, 400-А групи
спеціальності 091. Біологія

Іовиця Анастасія Михайлівна

Керівник

Кандидат біологічних наук
доцент **Волощук О. М.**

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

Чернівці - 2025

АНОТАЦІЯ

Бакалаврська робота присвячена дослідженню активності цитохромоксидази та вмісту цитохромів у печінці тварин з токсичним ураженням за умов введення етанольного естракту гриба *Hericium alpestre*.

Показано, що у тварин з інтоксикацією ацетамінофеном спостерігається зниження активності цитохромоксидази практично вдвічі порівняно з контролем, однією з причин встановленого факту може бути показане нами зниження вмісту мітохондріальних цитохромів aa_3 , b , c , c_1 у печінці тварин з токсичним ураженням. Встановлено, що введення тваринам етанольного екстракту *Hericium alpestre*, незалежно від режиму введення, призводить до збереження структурно-функціональної організації цитохромної ділянки дихального ланцюга, про що свідчить збереження активності цитохромоксидази та вміст мітохондріальних цитохромів. Отримані результати вказують на позитивний ефект етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre* на стан системи енергозабезпечення у тварин з інтоксикацією ацетамінофеном, що може лежати в основі його гепатопротекторної дії.

Ключові слова: екстракт *Hericium alpestre*, печінка, цитохромоксидаза, мітохондріальні цитохроми

ABSTRACT

The bachelor's thesis is devoted to the study of cytochrome oxidase activity and cytochrome content in the liver of animals with toxic lesions after administration of ethanol extract of the mushroom *Hericium alpestre*.

It has been shown that in animals with acetaminophen intoxication there is a decrease in cytochrome oxidase activity almost twofold compared to the control, one of the reasons for this fact may be the decrease in the content of mitochondrial cytochromes *aa3*, *b*, *c*, *c1* in the liver of animals with toxic lesions. It was found that the administration of ethanol extract of *Hericium alpestre* to animals, regardless of the mode of administration, leads to the preservation of the structural and functional organization of the cytochrome part of the respiratory chain, as evidenced by the preservation of cytochrome oxidase activity and the content of mitochondrial cytochromes. The results obtained indicate a positive effect of the ethanolic extract of the fungus *Hericium alpestre* on the state of the energy supply system in animals with acetaminophen intoxication, which may underlie its hepatoprotective effect.

Keywords: *Hericium alpestre* extract, liver, cytochrome oxidase, mitochondrial cytochromes

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

_____ А.М. Іовиця
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1. Механізми токсичності ацетамінофену.....	7
2. Структурно-функціональна організація цитохромної ділянки дихального ланцюга.....	9
2.1. Особливості будови і функціонування цитохромоксидази.....	10
2.2. Сучасні уявлення про мітохондріальні цитохроми.....	12
3. Гепатопротекторні властивості екстрактів грибів	15
4. <i>Hericium alpestre</i> як перспективне джерело біологічних активних сполук.....	18
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	20
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	24
ВИСНОВКИ	29
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	30
ДОДАТКИ	36

ВСТУП

Ацетамінофен/парацетамол є одним із найпоширеніших лікарських препаратів у світі. У той же час це, мабуть, одна з найнебезпечніших сполук у медичному застосуванні, яка є причиною сотень смертей у всіх промислово розвинутих країнах через гостру печінкову недостатність (ГПН) [1]. Механізм дії парацетамолу ще до кінця не вивчений. Вважається, що жарознижувачий ефект зумовлений пригніченням вироблення простагландинів та інгібуванням циклооксигенази (ЦОГ) [2].

Однією з ключових ланок токсичного впливу є мітохондріальна дисфункція, зокрема пошкодження компонентів дихального ланцюга. Цитохромна ділянка включає два ензиматичні комплекси: III (убіхінол-цитохром-*c*-оксидоредуктаза) і IV (цитохромоксидаза), що беруть участь у генерації електрохімічного потенціалу ($\Delta\mu\text{H}^+$) через транспорт електронів від убіхінолу [3].

Цитохроми — це група білків, що містять гемову групу і беруть участь у перенесенні електронів у мітохондріях та деяких інших органелах. Вони відіграють вирішальну роль у процесах окисного фосфорилування, забезпечуючи утворення аденозинтрифосфату (АТФ) — головного джерела енергії для клітини [4].

Останнім часом значний інтерес у біомедичних дослідженнях викликають природні сполуки, що можуть модулювати роботу мітохондрій та дихального ланцюга [5]. Одним із перспективних джерел таких біоактивних речовин є гриби. Гриби роду *Hericiium* — їстівні гриби із доведеною лікарською ефективністю [6]. Міцелій і базидіоми містять багато поживних речовин і біологічно активних сполук з терапевтичним використанням [7]. *Hericiium alpestre* — маловивчений представник цього роду [8].

Метою даної роботи було дослідження активності цитохромоксидази та вмісту цитохромів у печінці тварин з токсичним ураженням за умов введення етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*.

Для досягнення мети перед нами були поставлені наступні **завдання**:

1. Визначити активність цитохромоксидази у печінці тварин з токсичним ураженням за умов введення етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*.

2. Визначити вміст мітохондріальних цитохромів *aa₃*, *b*, *c*, *c₁* у печінці тварин з передозуванням ацетамінофеном та за умов введення етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1. Механізми токсичності ацетамінофену

На сьогодні відомо, що ацетамінофен, безпечний і жарознижувальний засіб, який продається без рецепта і використовується в більш ніж 600 лікарських засобах, є одним із найчастіше вживаних препаратів [9]. Він включений до переліку основних лікарських засобів, затвердженого Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ). Рекомендується як засіб першої лінії для більшості випадків болю та лихоманки, проте потребує обережного застосування у дітей віком від одного місяця, а також під час вагітності. Він випускається в різних формах, включаючи пероральні таблетки, капсули та рідкі форми для перорального застосування (сиropи, суспензії), а також ректальні супозиторії [2].

Токсичність ацетамінофену (N-ацетил-пара-амінофенол, парацетамол, АРАР) поширена насамперед через те, що ліки дуже доступні, і існує думка, що вони безпечні [10].

У порівнянні з іншими анальгетиками, доступними без рецепта, парацетамол має відносно вузький терапевтичний індекс. Токсичність може виникнути внаслідок помилок у дозуванні, випадкового проковтування дітьми та навмисного передозування. Парацетамол може спричинити серйозну гепатотоксичність при прийомі лише 10 г (або 200 мг/кг для пацієнтів до 50 кг) у разі гострого передозування [2].

Рекомендована доза ацетамінофену для дорослих становить від 650 мг до 1000 мг кожні 4-6 годин, але не повинна перевищувати 4 г/день. Дітям доза становить 15 мг/кг кожні 6 годин, до 60 мг/кг/добу. Токсичність розвивається при дозах від 7,5 г/добу до 10 г/добу або 140 мг/кг [10].

Передозування АРАР може призвести до значного ураження печінки і навіть до гострої печінкової недостатності. Насправді передозування АРАР є

причиною майже половини всіх випадків гострої печінкової недостатності у багатьох країнах.

Незважаючи на клінічне значення гепатотоксичності АРАР, лише 1 антидот, N-ацетилцистеїн (NAC), наразі схвалений для клінічного використання. Незважаючи на численні дослідження за останні 40 років, які показали позитивний вплив багатьох сполук, жодна з цих хімічних речовин, окрім NAC, не була успішно розроблена як клінічний антидот проти токсичності АРАР [11].

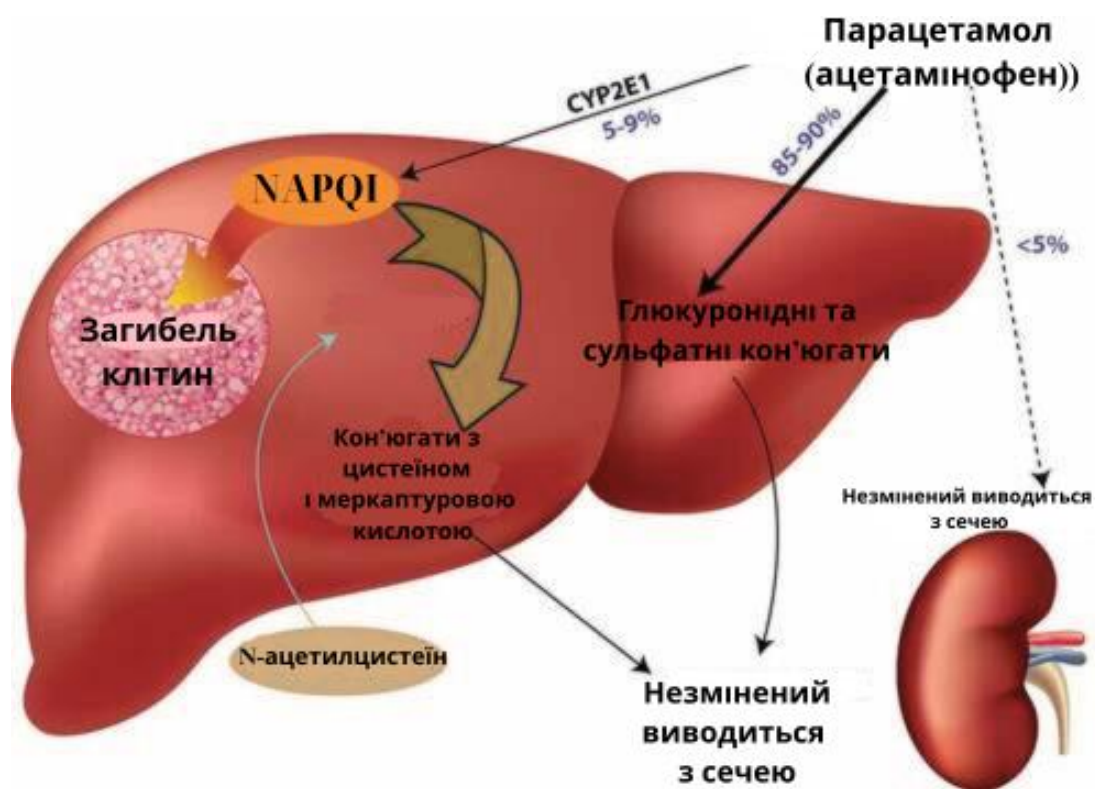


Рис. 1.1. Механізм токсичної дії парацетамолу та антитоксичний механізм дії ацетилцистеїну [11]

Механізм дії парацетамолу ще до кінця не вивчений. Вважається, що жарознижуючий ефект зумовлений пригніченням вироблення простагландинів та інгібуванням циклооксигенази (ЦОГ) у мозку. Однак він не виявляє жодних протизапальних ефектів, що свідчить про те, що він діє лише центрально, а не периферично [10].

Анальгетичний ефект також може бути наслідком перешкодження низхідним серотонінергічним шляхам болю через їх активацію. Таким чином, ці знеболюючі ефекти можуть бути пригнічені антагоністами серотоніну. Парацетамол, як правило, розглядається як анальгетик першого ряду, і в деяких групах пацієнтів йому віддають перевагу перед НПЗЗ [2].

2. Структурно-функціональна організація цитохромної ділянки дихального ланцюга

Мітохондріальний дихальний ланцюг є основною структурою для окисного фосфорилування та відіграє центральну роль у клітинному енергетичному метаболізмі [12].

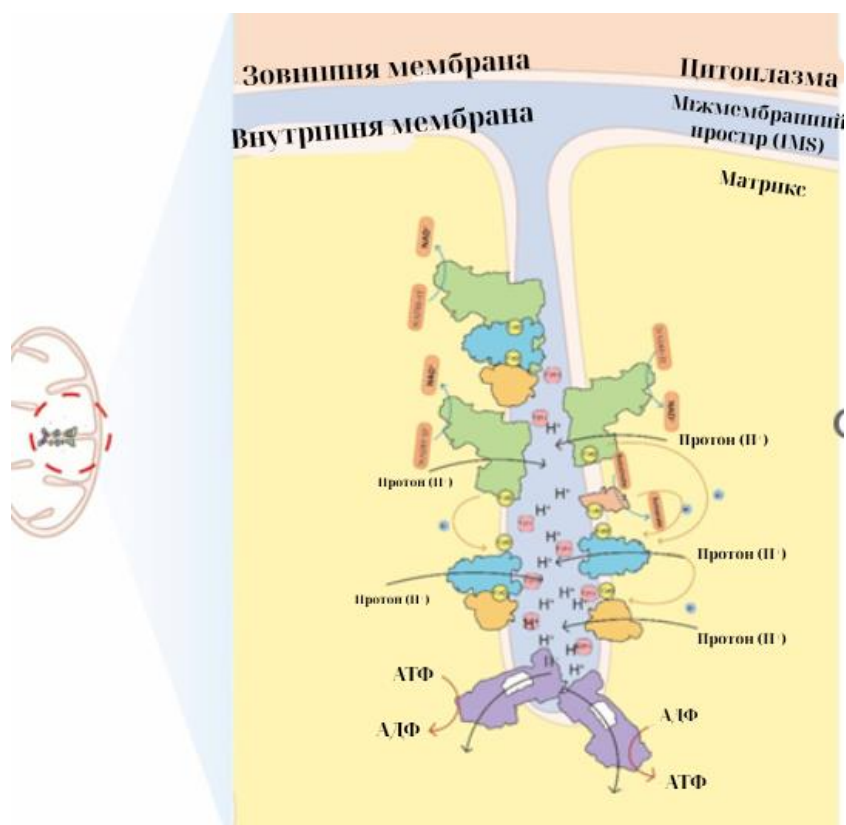


Рис. 1.2. Схематичне зображення будови цитохромної ділянки дихального ланцюга [12]

Мітохондріальний дихальний ланцюг складається з чотирьох ферментних комплексів, включаючи нікотинамідаденіндинуклеотид-

убіхінон-редуктазу (НАДН-дегідрогеназу) (комплекс I, CI), сукцинат-убіхінон-оксидоредуктазу (комплекс II, CII), убіхінон-цитохромоксидоредуктазу (комплекс III, CIII) і цитохром *c* оксидазу (Комплекс IV, CIV), а також два рухомих переносники електронів убіхінон (Co Q) і цитохром *c*.

Ці комплекси ферментів вбудовані у внутрішню мітохондріальну мембрану, утворюючи безперервну реакційну систему.

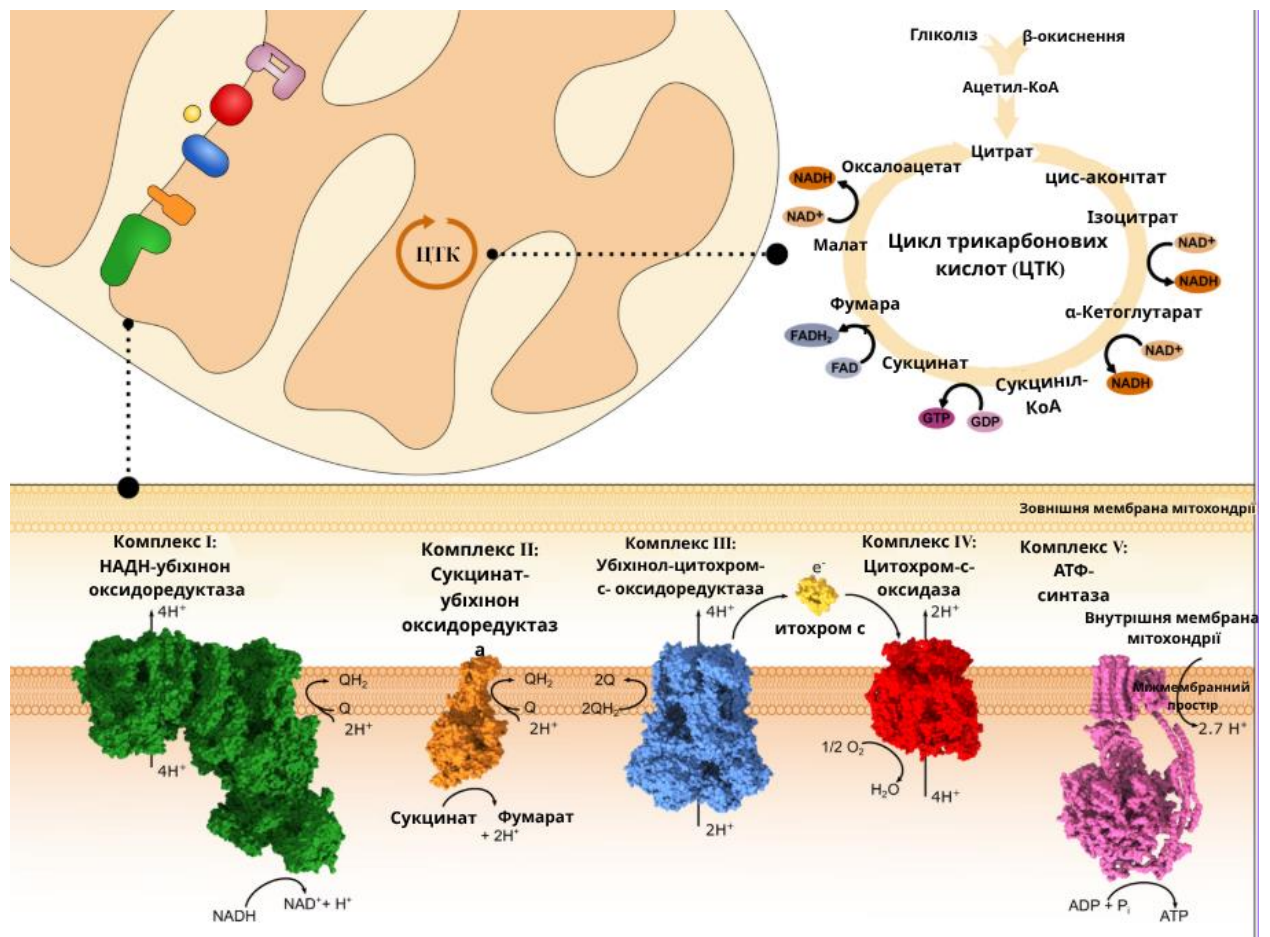


Рис. 1.3. Функціональна організація мітохондріального дихального ланцюга [13]

Чотири комплекси дихальних ланцюгів співпрацюють у передачі електронів, отриманих різними метаболічними шляхами, до молекулярного кисню, таким чином встановлюючи електрохімічний градієнт над внутрішньою мітохондріальною мембраною, який забезпечує синтез АТФ [12].

Цей транспорт електронів покладається на мобільні носії електронів, які функціонально з'єднують комплекси [22].

2.1. Особливості будови і функціонування цитохромоксидази

Цитохромна ділянка включає два ензиматичні комплекси: III (убіхінол-цитохром-*c*-оксидоредуктаза) і IV (цитохромоксидаза), що беруть участь у генерації електрохімічного потенціалу ($\Delta\mu\text{H}^+$) через транспорт електронів від убіхінолу [14].

Комплекс III є облігатним гомодимером. Кожен мономер складається з трьох основних функціонально важливих каталітичних субодиниць: цит *b*, який містить два гени В і два сайти зв'язування хінону, цит *c*, який містить гем С і залізо-сірчаний білок Rieske, який містить центр 2Fe-2S (FeS), зв'язаний в ектодоміні на *p*-стороні мембрани.

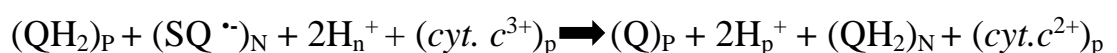
Цей комплекс каталізує окислення QH і відновлення цит *c* послідовності реакцій, які називаються Q-циклом протонного руху, який сприяє підтримці електрохімічного потенціалу протона через внутрішню мітохондріальну мембрану.

Донор електронів QH зв'язується в місці зв'язування Q, яке розташоване біля *p*-стороні мембрани. Перший електрон від QH переноситься до центру FeS, а потім до цит *c* вздовж гілки, яку називають «гілкою С».

Окиснення першого QH у Q *p*-сайті:



Окиснення другого QH₂ у Q *p*-сайті:



Загальна реакція:



, де нижні індекси n і p відносяться до двох сторін мембрани відповідно, а N і P відносяться до двох сайтів зв'язування Q відповідно. Цей перенос електрона супроводжується виділенням двох протонів у водний розчин на p -стороні мембрани. Другий електрон переноситься вздовж «гілки В» послідовно до низькопотенційного гему b , високопотенційного гему b і Q у місці Q , який утворює семіхінон SQ .

Після окислення QH в Q сайті продукт Q замінюється іншим QH , і послідовність реакцій перенесення електрона і протона повторюється. У результаті на ділянці Q_N після поглинання протона з боку n утворюється удвічі відновлений QH . QH_2 вивільняється з сайту Q_N шлях урівноваження з пулом Q/QH_2 у мембрані.

Комплекс IV або цитохром- c -оксидаза (ЦОГ) є останнім акцептором електронів дихального ланцюга, який бере участь у відновленні O_2 до H_2O . ЦОГ є мультимерним комплексом, утвореним декількома структурними субодиницями, закодованими в двох різних геномах, простетичними групами (гем a і гем a_3) і металевих центрах (CuA і CuB). Десятки додаткових білків необхідні для процесингу мітохондріальної РНК, синтезу та доставки простетичних груп і металевих центрів, а також для остаточного складання субодиниць для побудови функціонального комплексу [16].

Мітохондріальний комплекс IV є членом родини гем-мідь оксид, який характеризується каталітичним центром, який складається з групи гему та іона міді, де кисень відновлюється до води. Інші оксидази, такі як UQH оксидоредуктаза, цитохром bd і альтернативні оксидази також каталізують

відновлення O_2 до води в дихальних ланцюгах, але ці оксидази містять каталітичні центри іншого складу і не належать до родини гем-мідь оксидаз.

Родина гем-мідь-оксидаз визначається гомологією в субодиниці I, яка містить шість консервативних залишків гістидину, які координують три окисно-відновно-активні металеві центри: шестикоординована гемова група з двома аксіальними лігандами His; п'ятикоординована гемова група з одним аксіальним лігандом His і іон міді, який координується трьома лігандами His [17].

2.2. Сучасні уявлення про мітохондріальні цитохроми

Цитохроми — це окисно-відновні активні молекули, які містять гем як простетичну групу. Цитохроми зазвичай беруть участь у реакціях переносу електронів, і їх окисно-відновна активність визначається зміною валентності атома заліза в кофакторі гему (Fe^{3+} до Fe^{2+}).

Цитохром *c* — висококонсервативний білок, який асоціюється з внутрішньою мембраною мітохондрій, і виконує ключову роль у перенесенні електронів у дихальному ланцюзі [18].

Основною функцією цитохрому *c* є його участь у ланцюзі транспорту електронів внутрішньої мембрани мітохондрій. Це ключовий елемент, який забезпечує клітинне дихання. Оскільки електрон переноситься від убіхінол-цитохром *c*-редуктази (комплекс III) до цитохром *c*-оксидази (комплекс IV) у дихальному ланцюзі мітохондрій, цитохром *c* оборотно відновлюється та окислюється. Для перенесення електрона повинні утворитися короткоживучі комплекси цитохрому *c* з його окисно-відновними білками-партнерами. Відповідно до сучасної концепції, універсальний сайт взаємодії між цитохромом *c* і комплексами III і IV складається з центрального гідрофобного домену та оточуючого електростатичного домену [19].

Цитохром *c* виконує важливу функцію при апоптозі. Ушкодження мітохондріону, що супроводжується цитохрому *c* в цитоплазму, здатне ініціювати складання апоптосоми, що зрештою призведе до запрограмованої загибелі клітин [4]. Дефіцит цитохром *c*-оксидази (ЦОГ) характеризується високим ступенем генетичної та фенотипової гетерогенності, що частково відображає надзвичайну структурну складність, множинні посттрансляційні модифікації, мінливий, тканинспецифічний склад, а також велику кількість складних зв'язків між факторами збирання цього ферменту. Насправді зниження специфічної активності ЦОГ може проявлятися з різним ступенем тяжкості, впливати на весь організм або окремі тканини та розвивати широкий спектр природних захворювань, включаючи початок захворювання від народження до пізнього дорослого віку [19].

Цитохроми *c* становлять структурно різноманітну родину молекул, які знаходяться на так званій позитивній стороні (*p*-стороні) одномоембранних систем, що передають енергію [20].

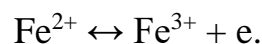
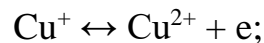
Цитохром *bc1*, також званий оксидоредуктазою цитохрому *c* або комплексом III, є частиною ланцюга транспортування електронів (ЕТС) і каталізує перенесення електронів від убіхінолу до цитохрому *c* і з'єднує транспорт електронів і транслокацію протонів через внутрішню мітохондріальну мембрану через Q-цикл. Тобто це димерний білковий комплекс із кількома субодиницями, що складається з цитохрому *b* із двома гемами *b*-типу, цитохрому *c1* з гемом *c*-типу та субодиниці залізо-сіркобілкового білка Rieske [21].

Цитохром *bc1* має два сайти зв'язування, які називаються Q_o та Q_i , субстратами яких є убіхінол (QH_2) та убіхінон (Q), відповідно. Цикл Q складається з двох напівциклів, у яких молекула убіхінолу послідовно зв'язується в кожному напівциклі з сайтом Q_o та окислюється, віддаючи електрон залізо-сірчаному білку Ріске (FeS) і низькопотенційному *b*-гему (*bL*-

гем). В результаті два протони переносяться в міжмембранний простір. У свою чергу, електрон, що надходить до групи *bL*-гема, використовується для зменшення високопотенційного *b*-гема (*bH*-гема). У той же час молекула убіхінону зв'язується з сайтом Qi і відновлюється *bH*-гемом з утворенням семіхінонового радикала. У наступному напівциклі інший електрон знову відновлює семіхіноновий радикал з утворенням убіхінолу, імпортуючи інші два протони з мітохондріального матриксу [21].

Цитохромоксидаза складається з двох типів цитохромів, а саме *a/a3*, кожен з яких здатен зв'язувати молекули кисню. Обидва ці цитохроми мають у своєму складі специфічну простетичну групу — гем А, що містить залізо у складі порфіринового комплексу. Гем А відрізняється за структурою від гемів, характерних для цитохромів *c* і *c1*.

Особливість комплексу *a/a3* є наявність в ньому іонів міді, які міцно зв'язані з білковими залишками. У процесі переносу електронів цим комплексом відбуваються такі окисно-відновні реакції:



У мітохондріальній внутрішній мембрані мітохондрій цитохроми, зазвичай, формують послідовні ланцюги, по яких електрони передаються від молекул-донорів до кінцевих акцепторів [18].

3. Гепатопротекторні властивості екстрактів грибів

У сучасній науці та медицині гриби займають особливе місце як джерело біологічно активних сполук (БАС). Інтерес до досліджень грибів обумовлений їхнім потенціалом у лікуванні різних захворювань, включаючи онкологічні, вірусні, бактеріальні інфекції та інші патології.

Гриби є цінним джерелом широкого спектра БАС, включаючи полісахариди (наприклад, бета-глюкани), білки, ферменти, терпеноїди, фенольні сполуки, флавоноїди, алкалоїди та органічні кислоти [23].

Ці сполуки проявляють різноманітні біологічні ефекти, зокрема антиоксидантні, антимікробні, протизапальні; [7] імуностимулюючі (здатність стимулювати імунну відповідь та знижувати запальні процеси) та протипухлинні властивості [24].

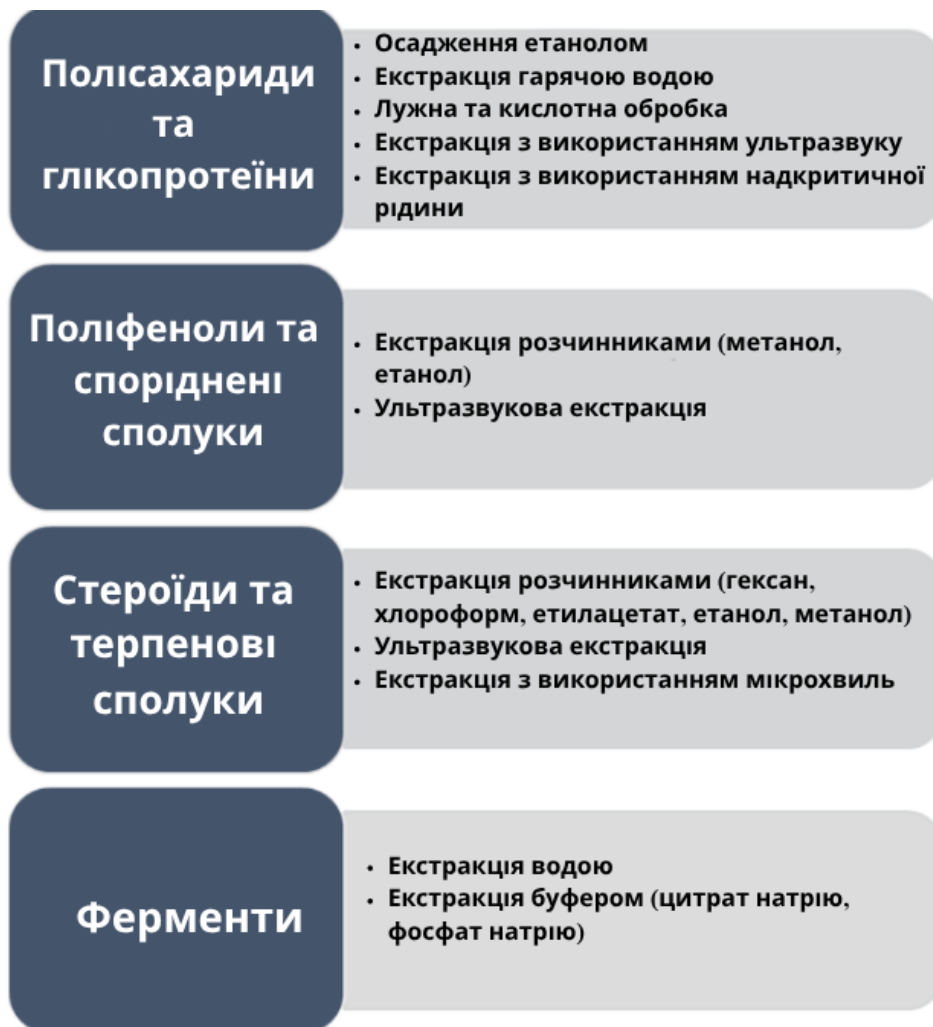


Рис. 1.4. Використання екстрактів грибів у медицині та фармацевтиці [7]

Основні ці біологічно активні сполуки та методи екстракції з грибних побічних продуктів отримані або шляхом ферментації лише на твердому субстраті, або шляхом зануреної ферментації на етапах виробництва [7].

Екстракти грибів вже активно використовуються в сучасній медицині та фармацевтичній промисловості. Екстракти грибів, такі як шиїтаке (*Lentinula edodes*), рейши (*Ganoderma lucidum*) та чага (*Inonotus obliquus*), використовуються у виробництві противірусних препаратів, включаючи вірус гепатиту та грипу [7].

Гриби мають здатність синтезувати унікальні сполуки, які важко відтворити хімічним шляхом, що відкриває нові можливості для створення ефективних та безпечних лікарських засобів [5].

Антиоксидантна активність грибних екстрактів сприяє їх застосуванню в косметичній індустрії для створення антивікових засобів. Завдяки протизапальній дії екстракти грибів входять до складу мазей та кремів для лікування шкірних захворювань, таких як дерматити та псоріаз [5].

У своєму дослідженні Аріель Дрорі вказує на екстракти, отримані з їстівного гриба *Lentinula edodes* (шиїтаке), які містять високий рівень ергостеролу, що після впливу УФ світла перетворюється на ергокальциферол (вітамін D), а після поглинання й подальшого гідроксилювання – на активну форму 25-гідроксिवітаміну D [25(OH)D]. У дослідженні мишам з імуноопосередкованим гепатитом вводили екстракти грибів з вітаміном D, що призвело до значного пониження рівня печінкових ферментів — аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази, а також для поліпшення гістологічної картини печінки. Автор стверджує, що було виявлено синергетичний ефект між протизапальними властивостями грибів і вітаміну D, що підтверджує їх потенціал у лікуванні захворювань печінки, таких як ВГС та неалкогольний стеатогепатит [26].

В іншому дослідженні було вивчено гепатопротекторний ефект екстракту міцелію *Antrodia cinnamomea*, унікального тайванського гриба. У ньому взяли участь 44 дорослі японці з незначним підвищенням рівня АЛТ: рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження

тривало 12 тижнів. Загалом значущих змін рівнів АЛТ і АСТ не було виявлено, однак підгруповий аналіз показав, що екстракт суттєво знижує рівень АЛТ у осіб, які регулярно споживають алкоголь. Це підтверджує можливу користь гриба для покращення функції печінки у цієї категорії пацієнтів [26]. У своєму дослідженні Уньонг Кім оцінював ефективність міцелію *Antrodia camphorata* при алкогольному ураженні печінки. Експерименти проводилися *in vitro* та *in vivo* відповідно до належних лабораторних практик (GLP). Введення порошку міцелію у дозах 50, 100 та 200 мг/кг/день значно знижувало рівні аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, холестерину, адипонектину, тригліцеридів і малонового діальдегіду. Гістологічний аналіз також підтвердив зменшення запалення в печінці [27].

Рамар Говіндараж та колеги досліджували гепатопротекторну дію *Tricholoma giganteum* (Agaricomycetes) на моделі неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів. Було використано стандартизований спиртовий екстракт базидіокарпіїв гриба. Після 4 тижнів лікування TgEtOH у дозі 200 мг/кг спостерігалось нормалізація біохімічних показників, зменшення відносної ваги печінки, концентрації ліпідів у сироватці крові та поліпшення гістологічної картини. Це вказує на ефективність екстракту в захисті печінки [28].

4. *Hericium alpestre* як перспективне джерело біологічних активних сполук

Століттями базидіоміцети роду *Hericium* (*Hericiaceae*) використовувалися як медичні продукти та дуже цінні продукти харчування, і було показано, що їхні метаболіти виявляють різноманітну біологічну активність. Зокрема, в клітинних дослідженнях було показано, що ізольовані монотерпеноїди та терпеноїди, такі як геріценони, кораллоцини та еринацини, проявляють біологічну активність.

Види *Hericiium* часто культивуються через їхню медичну та кулінарну цінність. Метаболіти, що виробляються як плодовими тілами, так і міцелієм деяких представників роду *Hericiium*, представляють особливий інтерес через їх біоактивну природу. Кілька отриманих сполук мають потенціал для лікування різноманітних захворювань із незначними побічними ефектами. Наприклад, було показано, що *H. erinaceus* лікує нервово-психічні розлади, такі як депресія, тоді як *H. novae-zealandiae* має протипухлинні властивості. Було виявлено, що *H. coralloides* має антивікові та антиоксидантні властивості.

Найбільш вивченим їстівним грибом із роду грибів є знаменитий левиний зів, *Hericiium erinaceus*, що активно використовується в практиці традиційної китайської медицині [6]. *Hericiium erinaceus* (*H. erinaceus*), який є сапротрофом, але іноді може паразитувати на деревах, наприклад, на мертвих або вмираючих деревах [29]. Цей гриб продемонстрував потенціал профілактики та лікування хвороб травної системи, зокрема виразка шлунка. Крім того, його терапевтичний потенціал був продемонстрований у кількох станах, включаючи діабет, гіперліпідемію, нейродегенеративні розлади та рак. Тому *H. erinaceus* традиційно та історично використовувався як природний засіб від епігастрального болю, спричиненого хронічним гастритом, виразкою шлунка або навіть атрофічним гастритом [30]. Особливий інтерес викликає гриб *Hericiium alpestre*, який є занесений до Червоної книги, мало досліджений і переважно зустрічається на ялиці сріблястій (*Abies alba*) [5]. Плодові тіла *Hericiium alpestre* мають розміри від 5 до 15 см, інколи можуть досягти 30 см у діаметрі. Вони зазвичай мають кущоподібну форму з гіллястою структурою та ніжкою. На початкових стадіях розвитку гриб має білий або рожевувато-білий колір, проте з часом, особливо при висиханні, набуває жовтих, охристих або бурих відтінків. Гіменофор складається зі шпильчастих виростів, а вони вже розташовані на кінчиках відгалужень. Ці шипи довгі, прямі або злегка зігнуті та забарвлені у кольори, подібні до основного тіла гриба [31]. Метаболіти

Hericium alpestre виявляють нейротрофічну активність, стимулюючи синтез факторів росту нервів (NGF). Дослідження показали, що деякі з нових метаболітів також модулюють виробництво BDNF і NGF. Ці сполуки сприяють виживанню нейронів і росту невритів через активацію шляху TrkA/Erk1/2. Окрім цього, метаболіти гриба демонструють імуномодулюючу, протизапальну, антимікробну та антипроліферативну активність, як вже зазначилось вище [32]. Німецький науковець Вінні Чемутай Сум стверджує, що єдиними сполуками, виділеними з *H. alpestre*, є ціатандитерпеноїди, які були отримані з культур із використанням штаму, який багато років зберігався у публічній колекції. Саме він вивчив нещодавно виділений штам, а також перевіряв утворення метаболіту на твердому середовищі [6].

Вторинні метаболіти *Hericium alpestre* демонструють схожість із метаболітами споріднених видів, таких як *H. erinaceus*. Проте деякі метаболіти, наприклад CJ14.258 і еринацин F, були вперше зафіксовані саме у *Hericium alpestre* [32].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкт і методи досліджень

Дослідження проводились на білих щурах вагою 150-200 г, що утримувалися на стандартному раціоні у віварії. Експерименти з тваринами здійснювалися згідно з положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів чи в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р).

Дослідних тварин поділили на групи:

- К – контроль;
- ЕГА – тварини, якими вводили *per os* 20 % етанольний екстракт плодових тіл гриба *Hericium alpestre* у концентрації 200 мкг/кг маси тіла протягом 10 діб;
- ТУ – щури з гострим ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням, яке моделювали «шляхом введення *per os* дослідним тваринам парацетамолу з розрахунку 1250 мг/кг маси тварин у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на день протягом 2 діб» [33];
- ЕГА+ТУ – тварини, яким перед моделюванням гострого ацетамінофен-індукованого токсичного ураження вводили протягом 10 діб *per os* 20 % етанольний екстракт плодових тіл гриба *Hericium alpestre* у концентрації 200 мкг/кг маси тіла;
- ТУ+ЕГА – тварини, яким після моделювання гострого ацетамінофен-індукованого токсичного ураження вводили протягом 7 діб *per os* 20 % етанольний екстракт плодових тіл гриба *Hericium alpestre* у концентрації 500 мкг/кг маси тіла.

Приготування етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*

У роботі досліджено гриб *Hericium alpestre*, який був наданий національним природним парком “Гуцульщина” в рамках договору про співпрацю з кафедрою біохімії та біотехнології ЧНУ імені Ю.Федьковича.

Екстракцію проводили за методом, який запропонував Boonsong et al. [34] з деякими змінами. Для приготування етанольного екстракту порошкоподібний зразок гриба (5 г), попередньо висушеного і подрібненого, змішували з 50 мл 70 % етанолу і струшували при 150 об/хв за кімнатною температури упродовж 24 годин. Після цього центрифугували зі швидкістю 12000 об/хв впродовж 15 хв. Супернатант відфільтровували через фільтрувальний папір Ватман і збирали фільтрат. Залишок повторно екстрагували за аналогічних умов. Здобутий екстракт концентрували у вакуумі при 40 °С на роторному випарнику Labfreez PE-2000E. Отриманий зразок зберігали у темному місці при температурі 4 °С.

Для подальшого дослідження гепатопротекторної активності готували 20 % екстракт *Hericium alpestre*.

Виділення мітохондріальних фракцій

Виділення мітохондріальної фракції здійснювали методом диференційного центрифугування. «Для цього печінку гомогенізували в буфері, що містив 250 мМ сахарози, 1 мМ EDTA, 30 мМ трис HCl, рН 7,4. З отриманого профільтрованого гомогенату осаджували ядра при 1000g протягом 10 хв. Мітохондріальну фракцію отримували із супернатанту шляхом осадження при 10000g протягом 10 хв. Осад, отриманий у ході центрифугування, двічі промивали буфером, який містив 250 мМ сахарози та 30 мМ трис HCl, рН 7,4, та центрифугували при 10000g протягом 10 хв. Для розведення отриманого осаду використовували буфер без EDTA. Вміст протеїнів у мітохондріальній фракції визначали методом Лоурі» [35].

Метод визначення активності цитохромоксидази

Принцип методу: «даний метод полягає у тому, що цитохромоксидаза має здатність окислювати α -нафтол та диметилпарафенілдіамін з утворенням кольорового продукту – індофенолового блакитного.

Активність цитохромоксидази визначають у реактиві НАДІ, що складається з 1,5 % α -нафтол, 1,5 % карбонат натрію, 1 % парафенілдіамін у співвідношенні 1:1:1. Реакцію починаємо додаванням суспензії мітохондрій у реакційне середовище. Після 30-ти хвилинної інкубації при 37°C додаємо 3 мл спирту. Проби центрифугуємо 10 хв при 6000 об/хв. Вимірюємо активність цитохромоксидази у надосадовій рідині на спектрофотометрі при довжині хвилі 550 нм. Активність цитохромоксидази розраховували виходячи з того, що зниження оптичної щільності на 1 еквівалентно відновленню 0,44 одиниці кисню та виражаємо в нмоль ЦО в 1 хв на 1 мг протеїну» [36].

<i>Цитохроми</i>	λ_1	λ_2	<i>K</i>
<i>a+a₃</i>	624	588	8
<i>b</i>	574	540	17
<i>c</i>	574	540	22
<i>c₁</i>	574	540	19

Метод визначення вмісту цитохромів

Для кількісного визначення цитохромів використовували метод диференційної спектрофотометрії. «Даний метод полягає у реєстрації адсорбції цитохромів у відновленому та окисленому стані в області їх спектральних максимумів [37].

Вміст цитохромів визначають у реакційному середовищі, яке містить 200 ммоль/л сахарози, 0,5 ммоль/л MgCl₂, 0,2 ммоль/л EDTA, 2 ммоль/л KН₂РO₄, 20 ммоль/л KCl, 30 ммоль/л трис HCl, рН 7,5. Для відновлення

цитохромів у проби додаємо 2 ммоль/л аміталу, 0,1 ммоль/л ДНФ, 0,1 ммоль/л НАДН₂, 5 ммоль/л сукцинату, 3 ммоль/л азиду натрію. Для окислення окислення цитохромів – 2 ммоль/л аміталу, 0,1 ммоль/л ДНФ, 0,1 ммоль/л НАДН₂, 3 ммоль/л азиду натрію. Реакцію починаємо додаванням суспензії мітохондрій.

Вимірювання абсорбції проводили при 624 нм, 588 нм, 574 нм та 540 нм на одному і тому самому препараті мітохондрій. Розрахунок вмісту цитохромів проводили за допомогою формули $Q = \lambda_1 - \lambda_2 / K$, де Q в мМ, K – коефіцієнт пропорційності».

Статистична обробка результатів

Статистична обробка результатів дослідження здійснювалася на персональному комп'ютері із застосуванням програми “Microsoft Excel”. Статистичне значення різниці середніх значень між групами оцінювали, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності між групами при $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Парацетамол (також відомий як ацетамінофен, N-ацетил-*p*-амінофенол або АРАР) є широко використовуваним болезаспокійливим і жарознижуючим засобом, доступним у численних рецептурних і безрецептурних формах. Його вважають анальгетиком першого ряду для багатьох пацієнтів із хронічним захворюванням печінки (ХЗП), головним чином через занепокоєння щодо побічних ефектів нестероїдних протизапальних засобів (НПЗП) і препаратів, похідних від опіоїдів [38].

Водночас зберігається науковий інтерес до вивчення біологічно активних сполук природного походження з терапевтичними властивостями. У цьому контексті гриби цікаві як джерело речовин з широким спектром біологічної дії, при цьому недостатньо вивченими залишаються гриби роду *Hericium*. Базидіоміцети роду *Hericium* (*Hericiaceae*) використовувалися як медичні продукти та цінні продукти харчування, і було показано, що їхні метаболіти виявляють різноманітну біологічну активність. Зокрема, в деяких дослідженнях було показано, що ізольовані монотерпеноїди та терпеноїди, такі як геріценони, кораллоцини та еринацини, виділені із гриба *Hericium erinaceus* проявляють нейротрофну активність [6].

Проте гепатопротекторні властивості грибів роду *Hericium*, зокрема *Hericium alpestre*, залишаються невивченими. Відомо, що в основі механізму дії багатьох гепатопротекторних препаратів лежить їх здатність впливати на процеси енергозабезпечення гепатоцитів, важливими показниками яких є активність цитохромоксидази, ензиму термінальної ділянки дихального ланцюга.

Ми досліджували екстракти гриба *Hericium alpestre*, який є малодослідженим видом та потенційно може бути джерелом біологічно активних сполук. Було проведено дослідження активності цитохромоксидази (рис. 3.1.) та вмісту мітохондріальних цитохромів *aa₃*, *b*, *c*, *c₁* (рис. 3.2.) у

печінці тварин з токсичним ураженням за умов введення етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*.

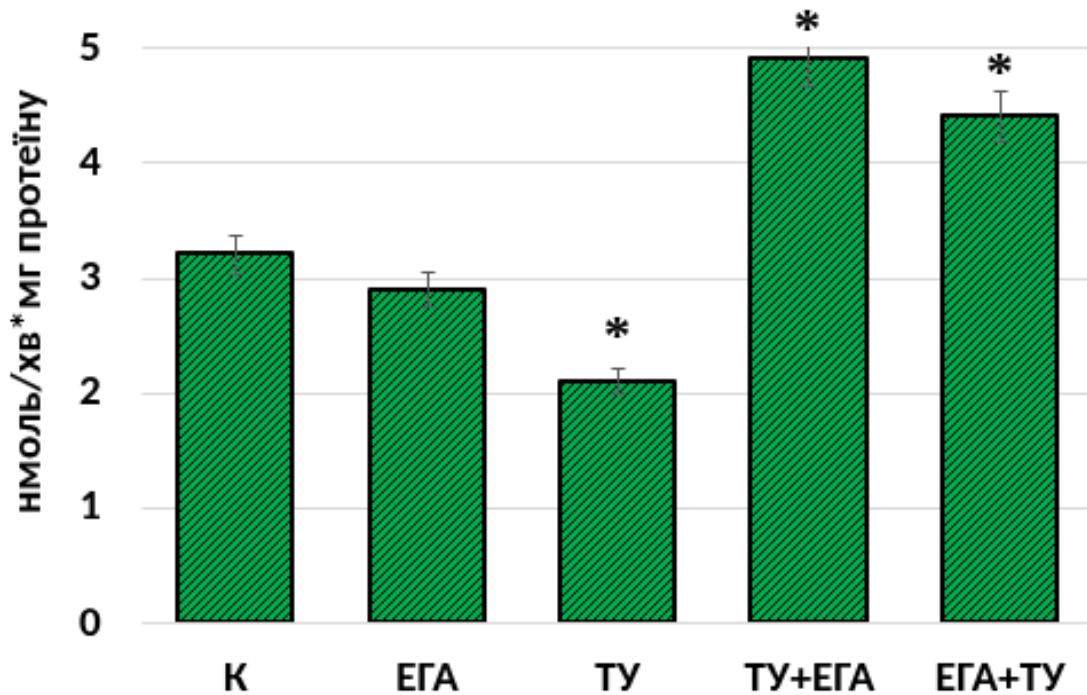


Рис.3.1. Активність цитохромоксидази в мітохондріях печінки за умов токсичного ураження ацетамінофеном та впливу етанольного екстракту

Hericium alpestre

Примітка: К – контроль; ЕГА – тварини, які отримували екстракт *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла; ТУ – тварини, які отримували токсичну дозу ацетамінофену; ЕГА+ТУ – тварини, які перед моделюванням токсичного ураження отримували екстракт *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла; ТУ+ЕГА – тварини, які отримували екстракт *Hericium alpestre* протягом 7 днів у дозі 500 мг/кг маси тіла після токсичного ураження ацетамінофеном.

* - статистично достовірною різниця порівняно з контролем, $p \leq 0,05$

- статистично достовірною різниця порівняно з групою ТУ, $p \leq 0,05$

Результати проведених досліджень показали, що у тварин, які отримали токсичну дозу ацетамінофену (ТУ), спостерігається значне зниження активності цитохромоксидази в мітохондріях печінки, майже в два рази в

порівнянні з контролем (К) (рис. 3.1.). Це може свідчити про інгібування функцій цитохромної ділянки дихального ланцюга мітохондрій за умов інтоксикації парацетамолом. Відомо, що під час передозування ацетамінофену утворення NAPQI, токсичного метаболіту парацетамолу, значно підвищується, спричиняючи виснаження вмісту глутатіону в печінці, що призводить до некрозу гепатоцитів. Мітохондрії є важливою ранньою мішенню для утворення аддукту NAPQI, причому ранній мітохондріальний окислювальний стрес активує мітоген-активовану білкову (MAP) кіназу JNK у цитозолі. Транслокація активованого JNK з цитозолу в мітохондрії посилює мітохондріальний окиснювальний стрес та індукує мітохондріальну дисфункцію з наступним некрозом гепатоцитів [31].

На наступному етапі наших досліджень перед моделюванням токсичного ураження тваринам вводили екстракт гриба *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг (ЕГА+ТУ). Результати проведених досліджень показали, що це запобігає зниженню активності цитохромоксидази і дозволяє нам припустити, що досліджуваний етанольний екстракт містить сполуки, які виявляють позитивний ефект на активність цитохромоксидази в мітохондріях.

Дослідження ефекту введення етанольного екстракту *Hericium alpestre* протягом 7 днів у дозі 500 мг/кг маси тіла тваринам після токсичного ураження ацетамінофеном (ТУ+ЕГА) дала нам змогу зробити висновок про те, що активність цитохромоксидази за досліджувальних умов зростала, перевищуючи показники групи ТУ приблизно в 2,5 рази. Відомо, що мітохондріальний комплекс IV дихального ланцюга, або цитохром-с-оксидаза (ЦОГ), є кінцевим ферментом електротранспортного ланцюга (ЕТЛ). Він каталізує окислення цитохрому с з одночасним відновленням молекулярного кисню (O_2) до води (H_2O). Енергія, що виділяється в результаті окисно-

відновної реакції, дозволяє ферменту перекачувати протони з мітохондріального матриксу в міжмембранний простір [40].

Відомо, що активність цитохромоксидази значною мірою визначається вмістом мітохондріальних цитохромів. Визначення вмісту мітохондріальних цитохромів $a+a_3$, b , c , c_1 у печінці тварин з токсичним ураженням (ТУ) показало, що вміст усіх цитохромів значно знизився в порівнянні з контролем (рис. 3.2.).

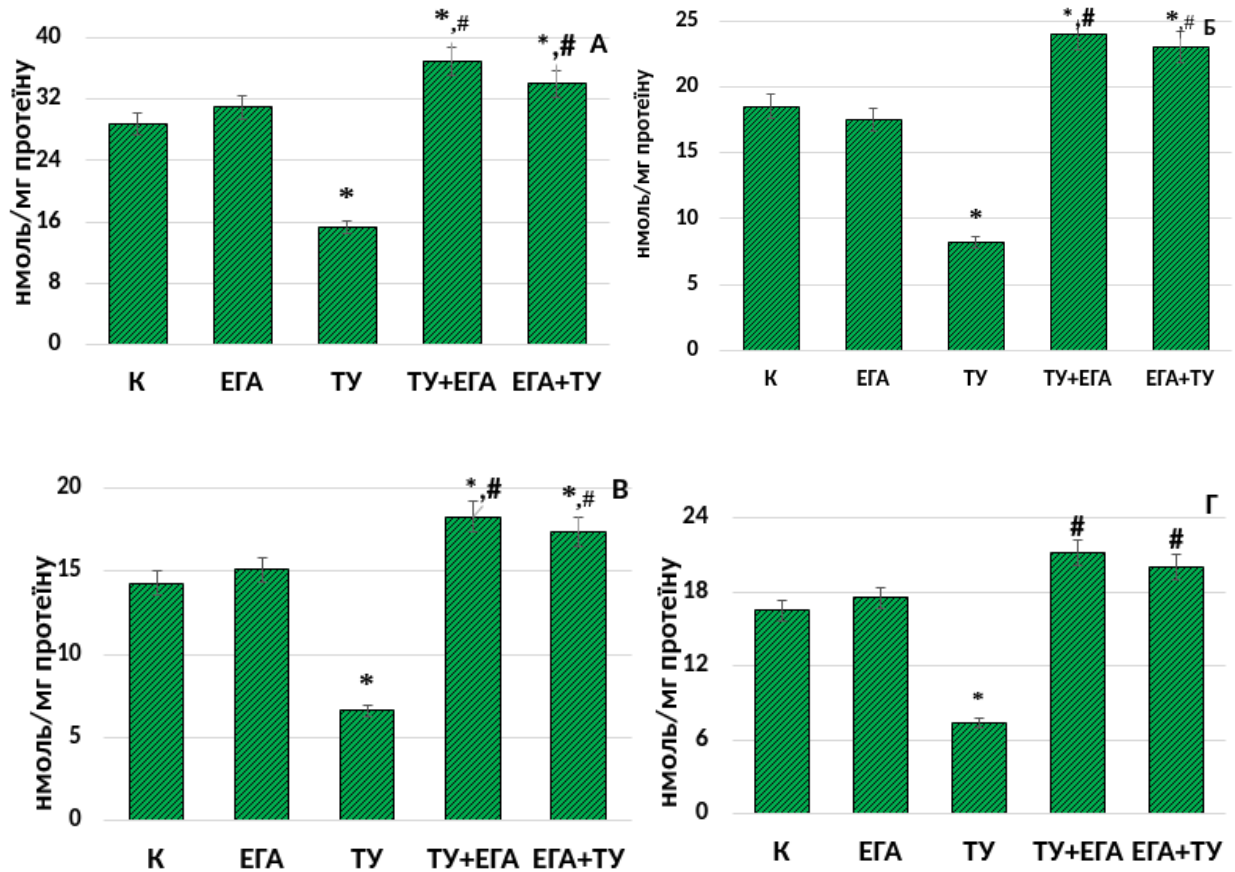


Рис.3.2. Вміст мітохондріальних цитохромів за умов токсичного ураження ацетамінофеном та впливу етанольного екстракту *Hericium alpestre* (А – вміст цитохромів $a+a_3$; Б – вміст цитохрому b ; В – вміст цитохрому c ; Г – вміст цитохрому c_1)

Отримані результати узгоджуються з показниками активності цитохромоксидази за досліджувальних умов, і може пояснювати порушення

роботи системи енергозабезпечення гепатоцитів за умов передозування ацетамінофеном.

Цікавим є те, що вміст цитохромів aa_3 у групах ТУ+ЕГА та ЕГА+ТУ значно підвищився порівняно з тваринами, які отримували токсичну дозу ацетамінофену, що може свідчити про активацію мітохондріального дихального ланцюга та посилене використання молекулярного кисню. У внутрішній мембрані мітохондрій, зазвичай, цитохроми aa_3 формують ланцюги, котрими транспортуються електрони, переходячи від донора до акцептора [18].

Вміст цитохрому b у групі ТУ+ЕГА збільшився майже вдвічі у порівнянні з групою ТУ, але дещо нижчий порівняно з групою ЕГА+ТУ. Вміст цитохрому c_1 у групі тварин з токсичним ураженням зменшився приблизно на 40-60 % у порівнянні з показниками контролю (К), проте зберігається на досить високому рівні у групах ТУ+ЕГА та ЕГА+ТУ, що підтверджує позитивну дію етанольного екстракту *Hericium alpestre* на показники енергозабезпечення клітин печінки, що може лежати в основі його гепатопротекторної дії.

Отже, проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що ацетамінофен спричиняє значне зниження активності цитохромоксидази (ЦОГ) та вмісту мітохондріальних цитохромів aa_3 , b , c , c_1 у печінці тварин з токсичним ураженням. Проте введення тваринам етанольного екстракту *Hericium alpestre*, незалежно від режиму введення, призводить до збереження структурно-функціональної організації цитохромної ділянки дихального ланцюга, що свідчить про позитивний ефект на стан системи енергозабезпечення в тварин з інтоксикацією ацетамінофеном і може лежати в основі його гепатопротекторної дії.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що у тварин з інтоксикацією ацетамінофеном спостерігається зниження активності цитохромоксидази практично вдвічі порівняно з контролем, однією з причин встановленого факту може бути показане нами заниження вмісту мітохондріальних цитохромів aa_3 , b , c , c_1 у печінці тварин з токсичними ураженням.
2. Показано, що введення тваринам етанольного екстракту *Hericium alpestre*, незалежно від режиму введення, призводить до збереження структурно-функціональної організації цитохромної ділянки дихального ланцюга, про що свідчить збереження активності цитохромоксидази та вміст мітохондріальних цитохромів. Отримані результати вказують на позитивний ефект етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre* на стан системи енергозабезпечення в тварин з інтоксикацією ацетамінофеном, що може лежати в основі його гепатопротекторної дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Brune K., Renner B., Tiegs G. Acetaminophen/paracetamol: a history of errors, failures and false decisions. *Eur. J. Pain.* 2015. Vol. 19 (7). P. 953-965.
2. Chidiac A.S., Buckley N.A., Noghrehchi F., Cairns R. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Drugs: Real World Outcomes.* 2023. Vol. 10 (4). P. 297-317.
3. Копильчук Г.П., Волощук О.М. Активність ензимів цитохромної ділянки дихального ланцюга мітохондрій нирок щурів за умов різної забезпеченості харчового раціону нутрієнтами. *Ukr. Biochem. J.* 2023. Vol. 95 (1). P. 64-72.
4. Електронний транспорт і окислювальне фосфорилування. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/156>
5. Suleiman W.B., Shehata R.M., Younis A.M. In vitro assessment of multipotential therapeutic importance of *Hericium erinaceus* mushroom extracts using different solvents. *Bioresour Bioprocess.* 2022. Vol. 9 (1). P. 99-107.
6. Sum W.C., Ebada S.S., Kirchenwitz M., Kellner H., Ibrahim M.A.A., Stradal T.E.B., Matasyoh J.C., Stadler M. Hericioic Acids A – G and Hericiofuranoic Acid; Neurotrophic Agents from Cultures of the European Mushroom *Hericium flagellum*. *J Agric Food Chem.* 2023. Vol. 71 (29). P. 11094-11103.
7. Łysakowska P., Sobota A., Wirkijowska A. Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production – A Review. *Molecules.* 2023. Vol. 28 (14). P. 5393-5401.
8. Onkhom D., Luangharn T., Raghoonundon B., Hyde K.D., Stadler M., Thongklang N. *Hericium*: A review of the cultivation, health-enhancing applications, economic importance, industrial, and pharmaceutical applications. *Fungal Biotech.* 2021. Vol. 1 (2). P. 118-130.

9. Keaveney A., Peters E., Way B. Effects of acetaminophen on risk taking. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 2020. Vol. 15 (7). P. 725-732.
10. Токсична дія ацетамінофену. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441917/>
11. Jaeschke H., Akakpo J.Y., Umbaugh D.S., Ramachandran A. Novel therapeutic approaches against acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *Toxicol. Sci.* 2020. Vol. 174 (2). P. 159-167.
12. Guan S., Zhao L., Peng R. Mitochondrial Respiratory Chain Supercomplexes: From Structure to Function. *Int J Mol Sci.* 2022. Vol. 23 (22). P. 13880-1423.
13. Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes. *EMBO Rep.* 2023. Vol. 24 (11). P. 569-634.
14. Копильчук Г.П., Волощук О.М. Активність ензимів цитохромної ділянки дихального ланцюга мітохондрій нирок щурів за умов різної забезпеченості харчового раціону нутрієнтами. *Ukr. Biochem. J.* 2023. Vol. 95 (1). P. 64-72.
15. Brzezinski P., Moe A., Ädelroth P. Structure and Mechanism of Respiratory III–IV Supercomplexes in Bioenergetic Membranes. *Chem Rev.* 2021. Vol. 121 (15). P. 9644-9673.
16. Mansilla N., Racca S., Gras D.E., Gonzalez D.H., Welchen E. The Complexity of Mitochondrial Complex IV: An Update of Cytochrome *c* oxidase Biogenesis in Plants. *Int J Mol Sci.* 2018. Vol. 19 (3). P. 662-678.
17. Rak M., Bénit P., Chrétien D., Bouchereau J., Schiff M., El-Khoury R., Tzagoloff A., Rustin P. Mitochondrial Cytochrome *c* oxidase Deficiency. *Clin Sci (Lond).* 2016. Vol. 130 (6). P. 393-407.
18. Функції цитохрому *c*. Режим доступу: <https://surli.cc/teityo>

19. Chertkova R.V., Brazhe N.A., Bryantseva T.V., Nekrasov A.N., Dolgikh D.A., Yusipovich A.I., Sosnovtseva O., Maksimov G.V., Rubin A.B., Kirpichnikov M.P. New insight into the mechanism of mitochondrial cytochrome *c* function. *PLoS One*. 2017. Vol. 12 (5). P. 523-612.
20. Hamel P., Corvest V., Giegé P., Bonnard G. Biochemical requirements for the maturation of mitochondrial *c*-type cytochromes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2009. Vol. 1793 (1). P. 125-138.
21. Muscat S., Grasso G., Scapozza L., Danani A. In silico investigation of cytochrome *bc1* molecular inhibition mechanism against *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023. Vol. 17(1). P. 27-43.
22. Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes. *EMBO Rep*. 2023. Vol. 24 (11). P. 689-745.
23. Antunes F., Marçal S., Taofiq O., Morais A.M.M.B., Freitas A.C., Ferreira I.C.F.R., Pintado M. Valorization of Mushroom By-Products as a Source of Value-Added Compounds and Potential Applications. *Molecules*. 2020. Vol. 25 (11). P. 2672-2702.
24. Nowakowski P., Markiewicz-Żukowska R., Bielecka J., Mielcarek K., Grabia M., Socha K. Treasures from the forest: Evaluation of mushroom extracts as anti-cancer agents. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021. Vol. 143. P. 623-765.
25. Drori A., Shabat Y., Ben Ya'acov A., Danay O., Levanon D., Zolotarov L., Ilan Y. Extracts from *Lentinula edodes* (*Shiitake*) edible mushrooms enriched with vitamin D exert an anti-inflammatory hepatoprotective effect. *J. Med. Food*. 2016. Vol. 19. P. 658-724.
26. Ho C.Y., Kuan C.M., Hsu P.K. Hepatoprotective effect of *Antrodia cinnamomea* mycelia extract in subhealth Japanese adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *J. Diet. Suppl*. 2023. Vol. 20. P. 939-949.

27. Kim U., Jang S.I., Chen P.N., Horii S., Wen W.C. Hepatoprotective effect of *Antrodia camphorata* mycelium powder on alcohol-induced liver damage. *Nutrients*. 2024. Vol. 16 (19). P. 3406-3441.
28. Govindaraj R., Paulraj M.G., Toppo E., Pandikumar P., Ignacimuthu S., Al-Dhabi N.A. Hepatoprotective effect of *Tricholoma giganteum* (Agaricomycetes) in a nonalcoholic fatty liver disease rat model. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2016. Vol. 18 (8). P. 661-669.
29. Szućko-Kociuba I., Trzeciak-Ryczek A., Kupnicka P., Chlubek D. Neurotrophic and neuroprotective effects of *Herichium erinaceus*. *Int. J. Mol. Sci*. 2023. Vol. 24 (21). P. 15-42.
30. Gravina A.G., Pellegrino R., Auletta S., Palladino G., Brandimarte G., D’Onofrio R., Arboretto G., Imperio G., Ventura A., Cipullo M., Romano M., Federico A. *Herichium erinaceus*, a medicinal fungus with a centuries-old history: evidence in gastrointestinal diseases. *World J. Gastroenterol*. 2023. Vol. 29(20). P. 3048–3065.
31. *Herichium alpestre* – ботанічний опис і властивості. Режим доступу: <http://gribi.net.ua/uk/herichium-alpestre-2/>.
32. Rupcic Z., Rascher M., Kanaki S., Köster R.W., Stadler M., Wittstein K. Two New Cyathane Diterpenoids from Mycelial Cultures of the Medicinal Mushroom *Herichium erinaceus* and the Rare Species, *Herichium flagellum*. *Int J Mol Sci*. 2018. Vol. 19 (3). P. 740.
33. Волощук О.М., Копильчук Г.П. Особливості водно-сольового обміну у щурів з дефіцитом протеїну за умов токсичного ураження ацетамінофеном. *Фізіол. журн*. 2019. Т. 65, № 3. С. 28-33.
34. Boonsong S., Klaypradit W., Wilaipuna P. Antioxidant activities of extract from five edible mushrooms using different extractants. *Agriculture and Natural Resources*. 2016. Vol. 50. P. 89-97.

35. Marchenko M. M., Kopyl'chuk G. P., Voloshchuk O. M. Effect of low doses of ionizing radiation on the fractional content of mitochondrial proteins and mtDNA in Guerin's carcinoma. *Ukrain'skyi Biokhimichnyi Zhurnal*. 2008. Vol. 80. 114-119. *Ukr.*
36. Рибальченко В. К., Коганов М. М. Структура і функції мембран: Практикум. — К.: Вища школа. Головне видавництво. 1988. С. 312.
37. Sato N., Hagihara B. Spectrophotometric Analyses of Cytochromes in Ascites Hepatomas of Rats and Mice. *Cancer Res*. 1970. Vol. 30. P. 2061 – 2068.
38. Hayward K.L., Powell E.E., Irvine K.M., Martin J.H. Can paracetamol (acetaminophen) be administered to patients with liver impairment? *Pharmacol*. 2015. Vol. 81 (2). P. 210-222.
39. Rak M., Bénit P., Chrétien D., Bouchereau J., Schiff M., El-Khoury R., Tzagoloff A., Rustin P. Mitochondrial cytochrome *c* oxidase deficiency. *Clin. Sci. (Lond)*. 2016. Vol. 130 (6). P. 393-407.
40. Brischigliaro M., Zeviani M. Cytochrome *c* oxidase deficiency. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2021. Vol. 1862 (1). P. 148335.
41. Ramachandran A., Jaeschke H. A mitochondrial journey through acetaminophen hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol*. 2020. Vol. 140. P. 11282.

ДОДАТКИ

Охорона праці та безпека у надзвичайних ситуаціях

Під час роботи в лабораторії необхідно дотримуватися наступних заходів безпеки:

- ✓ забороняється заходити в лабораторію у верхньому одязі;
- ✓ працювати в біохімічній лабораторії можна тільки в спеціальному халаті, оскільки ймовірна можливість забруднення, псування одягу при потрапляння їдких реактивів.

Правила роботи з реактивами

- ✓ концентровані кислоти та луги повинні знаходитися під витяжною шафою;
- ✓ усі дослідження з отруйними речовинами та речовинами з їдким запахом проводити тільки під витяжною шафою;
- ✓ наливати або насипати реактиви слід тільки над столом;
- ✓ не слід залишати відкритими банки з реактивами;
- ✓ пролиті або розсипані реактиви потрібно негайно видалити зі столу, витерти стіл ганчіркою та промити водою;
- ✓ пролиті концентровані кислоти необхідно засипати піском, потім зібрати пісок лопаткою. Дане місце необхідно промити розчином соди та витерти ганчіркою;
- ✓ під час роботи з органічними розчинниками (спирти, ефіри, ацетон, бензол тощо) не можна визначати речовину за запахом, щоб уникнути отруєння їх парами;
- ✓ наповнення піпеток розчинами органічних розчинників, кислот, лугів проводять тільки за допомогою груші;
- ✓ уважно стежити за тим, щоб реактиви (особливо кислоти і луги) не потрапляли на обличчя, руки та одяг;

- ✓ не ходити по лабораторії з концентрованими кислотами, а наливати їх тільки в певному, відведеному для цього місці;
- ✓ не забруднювати реактиви під час роботи: не плутати пробки від склянок, які містять різні реактиви; надлишок взятого реактиву не виливати назад у посуд;
- ✓ набирати кожен реактив тільки призначеною для цього піпеткою і в жодному разі не плутати їх;
- ✓ у випадку потрапляння на шкіру концентрованої кислоти, уражене місце необхідно промити великою кількістю води, а потім розведеним розчином соди;
- ✓ при потраплянні розчинів лугів на шкіру уражене місце потрібно обробити спочатку розведеною кислотою, а потім водою.

Правила роботи з нагрівальними приладами

- ✓ перед тим як запалити спиртівку переконатися, що поблизу немає легкозаймистих рідин (спирт, ефір тощо);
- ✓ запалювати спиртівку можна тільки сірником;
- ✓ у пробірці можна нагрівати лише невелику кількість розчину, рідина повинна займати не більше 1/3 об'єму пробірки;
- ✓ пробірку при нагріванні необхідно направляти в сторону від себе і людей, які знаходяться поруч;
- ✓ не можна нахилитися над спиртівкою: спочатку пробірку з розчином потрібно прогріти всю, а потім нагрівати в потрібному місці, не виймаючи з полум'я спиртівки;
- ✓ не можна нагрівати пробірку довго в одному місці, оскільки рідина швидко закипить і вихлюпнеться із пробірки;
- ✓ нагрівати пробірку потрібно нижче рівня рідини в ній;

- ✓ при нагріванні рідини не можна торкатися колбою палаючого гніту, завжди дотримуватися правил безпеки при нагріванні, не допускати випліскування рідини (час від часу відводити пробірку від полум'я, не нагрівати її у вертикальному положенні;
- ✓ після нагрівання слід відразу загасити спиртівку, накривши полум'я ковпачком;
- ✓ робота з водяною банею здійснюється тільки під тягою;
- ✓ при опіках на обпечене місце потрібно покласти вату, змочену розчином перманганату калію.

Правила роботи з лабораторним обладнанням

Центрифуги

- ✓ перед центрифугуванням центрифужні пробірки врівноважують та розміщують у центрифугі симетрично;
- ✓ центрифужна камера повинна бути закрита кришкою;
- ✓ під час роботи центрифуги забороняється відкривати кришку камери;
- ✓ після відключення центрифуги необхідно дати можливість ротору зупинитися, забороняється гальмувати ротор рукою.

Автоматичні піпетки

- ✓ тримаючи піпетку у вертикальному положенні натиснути кнопку до першого упору (фаза А);
- ✓ занурити наконечник в рідину на глибину 3 до 5 мм (фаза В);
- ✓ набрати рідину в наконечник повільно відпускаючи кнопку, трохи почекати і вийняти наконечник з рідини (фаза С);
- ✓ доторкнутися наконечником до внутрішньої стінки посудини і спорожнити наконечник, плавно натискаючи кнопку до першого упору з такою ж швидкістю як при взятті проби (фаза D);

- ✓ почекати близько 1 секунди, натискаючи кнопку піпетки до другого упору, видалити залишки рідини і вийняти піпетку, ковзаючи наконечником по внутрішній стінці посудини (фаза E);
- ✓ після зняття наконечника піпетка готова до повторення циклу роботи;
- ✓ забороняється набирати рідину піпеткою без наконечника;
- ✓ під час роботи з рідиною, що має температуру, відмінну від температури навколишнього середовища більше 5°C рекомендується багаторазово прополоскати наконечники;
- ✓ після закінчення роботи слід помістити піпетку в штативі.