

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З АЦЕТАМІНОФЕН-ІНДУКОВАНОЮ ТОКСИЧНІСТЮ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ЕТАНОЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ *HERICIUM ALPESTRE*

О. М. ВОЛОЩУК, Н. В. ВІКОЛ, О. С. ПЕТРАЩУК

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

Роботу присвячено визначенню показників ензиматичної активності комплексів дихального ланцюга мітохондрій печінки за умов інтоксикації ацетамінофеном та введення етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*. Дослідження проводили на 4 групах тварин: К – контрольні щури; ТУ – щури з модельованим токсичним ураженням; ЕГА – щури, яким протягом 10 діб вводили *per os* 20 % етанольний екстракт плодів гриба *Hericium alpestre* у дозі 200 мг/кг маси тіла; ЕГА+ТУ – щури, яким перед моделюванням токсичного ураження протягом 10 діб вводили *per os* 20 % екстракт гриба *Hericium alpestre*. Встановлено, що передозування ацетамінофеном супроводжується розвитком вираженого оксидативного стресу в мітохондріях печінки, про що свідчить зростання генерації супероксид аніон-радикала ($O_2^{\cdot-}$) майже у 2,5 рази, а гідроксильного радикала ($HO^{\cdot}$) – у 1,7 рази порівняно з контролем. Посилення продуктування активних форм кисню супроводжується накопиченням продуктів вільнорадикального ушкодження ліпідів і протеїнів, зокрема ТБК-активних продуктів і карбонільних похідних, а також достовірним пригніченням активності НАДН-дегідрогенази (комплекс I) та сукцинатдегідрогенази (комплекс II) мітохондріального дихального ланцюга. Показано, що попереднє введення етанольного екстракту *Hericium alpestre* перед моделюванням токсичного ураження ацетамінофеном призводить до зниження інтенсивності генерації супероксиду, а рівень гідроксильного радикала наближається до контрольних значень. Водночас у тварин цієї групи спостерігається достовірне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів і карбонільних похідних, а також підвищення активності НАДН-дегідрогенази та сукцинатдегідрогенази порівняно з тваринами з ацетамінофен-індукованою інтоксикацією, які не отримували екстракт. Отримані результати свідчать, що етанольний екстракт гриба *Hericium alpestre* виявляє виражену антиоксидантну дію та зменшує прояви оксидативного ушкодження основних макромолекул клітин печінки, сприяючи частковому відновленню мітохондріальної функції за умов передозування ацетамінофеном.

Ключові слова: ацетамінофен, печінка, етанольний екстракт *H. alpestre*, маркери оксидативного стресу, НАДН-дегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа

Вступ. В останні роки все більше досліджень присвячені пошуку природних джерел антиоксидантів, здатних ефективно корегувати метаболічні порушення. У цьому контексті особливу увагу привертають гриби роду *Hericium*, екстракти яких багаті на різні біологічно активні речовини та нутрієнти, а також демонструють протизапальну, антимікробну, протидіабетичну, антиоксидантну, гепатопротекторну та протипухлинну дії, ймовірно, зумовлену наявністю полісахаридів, геріценонів, еринацинів, резорцинів, моно- та дитерпенів (Kostanda et al., 2024). Попри загальну цікавість грибами цього роду, дослідження *Hericium alpestre* залишаються

обмеженими, що підкреслює важливість детального вивчення біологічної активності його екстрактів.

Для дослідження потенційних гепатопротекторних властивостей екстракту *Hericium alpestre* було використано модель ацетамінофен-індукованого токсичного впливу. Ацетамінофен є поширеним анальгетиком, проте його передозування є однією з найпоширеніших причин гострої печінкової недостатності. Ключова роль у патогенезі цього стану належить метаболізму препарату з утворенням реактивного інтермедиату N-ацетил-*p*-бензохіноніміну (NAPQI). Його надмірне накопичення провокує розвиток оксидативного

стресу – системного дисбалансу між генерацією активних форм кисню та потужністю антиоксидантного захисту клітини. Центральною мішенню токсичного впливу є мітохондрії гепатоцитів. Відомо, що ефективність репаративних процесів у печінці безпосередньо залежить від стану енергетичного забезпечення клітин, детермінованого роботою дихального ланцюга. Ключовими ланками цього процесу є активність НАДН-дегідрогенази та сукцинатдегідрогенази, пригнічення яких веде до енергетичного дефіциту та посилення прооксидантних процесів (Yan et al., 2018).

Враховуючи вище сказане, метою роботи стало вивчення інтенсивності вільнорадикальних процесів та ензиматичної активності I та II комплексів дихального ланцюга мітохондрій за умов ацетамінофен-індукованої токсичності та введення екстракту *Hericium alpestre*, що дозволить оцінити його перспективність як нового гепатопротекторного засобу.

Матеріали та методи. “Експерименти виконували на білих безпородних щурах масою 120–150 г, віком 2,5–3 міс. Умови утримання та маніпуляції, які проводили з тваринами під час експерименту, відповідали вимогам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також рекомендаціям «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (Київ, 2006). Тварин утримували в пластикових клітках з піщаною підстилкою, доступом до води *ad libitum*” (Voloshchuk, 2024).

Тварини в експерименті були поділені на групи: К – контрольні щури; ТУ – щури з моделюванням токсичним ураженням ацетамінофеном; ЕГА – щури, яким протягом 10 діб вводили *per os* 20 % етанольний екстракт плодів гриба *Hericium alpestre* у дозі 200 мкг/кг маси тіла; ЕГА+ТУ – щури, яким перед моделюванням ацетамінофен-індукованого ураження протягом 10 діб вводили *per os* 20 % екстракт гриба *Hericium alpestre*. Токсичне ураження моделювали шляхом введення *per os* ацетамінофену в дозі 1 г/кг маси тварин у 2 %-й крохмальній суспензії протягом 2 діб за допомогою спеціального зонда (Gao et al., 2017).

Досліджуваний гриб *Hericium alpestre* був наданий національним-природничим парком “Гуцульщина” у рамках договору про співпрацю з кафедрою біохімії та біотехнології ЧНУ імені Ю.Федьковича. “Екстракцію проводили згідно з методом, запропонованим у роботі (Boonsong et al., 2016) з деякими змінами. Для приготування етанольного екстракту порошкоподібний зразок

гриба (5 г), попередньо висушеного і подрібненого, змішували з 50 мл 70% етанолу і струщували при 150 об/хв при кімнатній температурі протягом 24 годин; потім його центрифугували при 12000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант фільтрували за допомогою фільтрувального паперу Ватман і збирали фільтрат. Залишок повторно екстрагували за тих же умов. Отриманий екстракт концентрували під вакуумом при 40 °C на роторному випарнику Labfreez RE-2000E. Отриманий зразок зберігався в темному місці при 4 °C” (Волошук, Шнайдер, 2025). Для подальшого дослідження готували 20 % екстракт *H. alpestre* у концентрації 200 мкг/кг маси тіла.

Мітохондрії із печінки виділяли методом диференційного центрифугування при 0 – 4 °C, середовище виділення містило 250 ммоль/л сахарозу, 10 ммоль/л тріс і 1 ммоль/л ЕДТА, pH 7,4. Інтенсивність продукування супероксидного аніон радикалу в мітохондріях клітин печінки визначали за реакцією відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) супероксидом у забарвлений диформазан з максимумом поглинання 540 нм (Kostenko, Tsebrzhins'kii, 2000). Інтенсивність продукування гідроксильного радикала визначали згідно з методом Ткаченка та співавт. (Ткаченко та ін., 2005). Інкубаційне середовище містило 20 ммоль/л дезоксирибози, 1 ммоль/л H₂O₂, 20 ммоль/л натрій-фосфатний буфер (pH 7,4) та 200 мкл суспензії мітохондрій. Після інкубації протягом 30 хв при 37 °C у пробірки вносили 0,5 мл 1 % ТБК в 50 ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8 % ТХО. Проби витримували 20 хв на киплячій водяній бані, охолоджували і визначали величину екстинції при 532 нм. Інтенсивність генерації гідроксильного радикала виражали в наномолях за 1 хв на 1 мг протеїну.

Вміст карбонільних дериватів протеїнів визначали за рівнем утворення похідних 2,4-динітрофенілгідрозону, які формуються внаслідок реакції між окисненими залишками амінокислот та 2,4-динітрофенілгідразиним. Реєстрацію утворених продуктів проводили на спектрофотометрі при довжині хвилі 370 нм. Результати вимірювань представляли у нмоль/мг протеїну (Parihar, Pandit, 2003).

Рівень ТБК-активних продуктів встановлювали шляхом взаємодії з тіобарбітуровою кислотою, яка формує забарвлений триметиновий комплекс рожевого відтінку за умов підвищеної температури та кислотності середовища. Оптичну густину утвореного кольорового розчину вимірювали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 532 нм. Розраховували вміст ТБК-активних продуктів, використовуючи коефіцієнт молярної

екстинкції $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Вміст ТБК-активних продуктів представляли у наномолях на міліграм протеїну (Rodrigues et al., 2021).

Активність НАДН-дегідрогенази визначали спектрофотометрично за швидкістю окислення НАДН. 100 мкл мітохондріальних фракцій і 100 мкМ НАДН додавали до пробірок, що містили 2,9 мл 0,02 М трифосфатного буфера (pH 7,4). Вимірювання проводили при 340 нм за зниженням оптичної щільності протягом 2 хв з інтервалом 20 с. Активність НАДН-дегідрогенази розраховували з врахуванням коефіцієнту молярної екстинкції $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Korylchuk, Voloshchuk, 2015). Активність сукцинатдегідрогенази визначали за кількістю відновленого в реакції з сукцинатом ферриціаніду калію ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). У пробірки вносили середовище інкубації: 0,1 М фосфатного буфера (pH 7,8), 0,1 М бурштинової кислоти, 0,1 М ЕДТА, 0,1 М натрію азиду, 0,1 мл H_2O . До проб додавали по 0,2 мг білка суспензії мітохондрій. Зразки інкубували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин для інгібування цитохромоксидази азидом натрію. Реакцію розпочинали додаванням до проб 0,1 мл розчину калію ферриціаніду. Зразки інкубували протягом 10 хвилин при 30 °С. Після інкубації реакцію зупиняли додаванням 2 мл 20 % ТХО і знижували температуру проб до 0 °С шляхом опускання проб у лід. У контрольні проби, які містять всі компоненти інкубаційної суміші, ТХО додавали перед внесенням суспензії мітохондрій. Проби центрифугували 15 хв при 2000 об/хв для осадження білка. Прозору надосадову рідину фотометрували на спектрофотометрі за довжини хвилі 420 нм (Marchenko et al., 2011).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за допомогою Microsoft Office Excel. Результати дев'яти незалежних вимірювань представлено як середнє арифметичне (M) $\pm$ стандартна похибка середнього (SEM). Достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали з використанням критерію Стюдента (t), вважаючи різницю статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати проведених досліджень показали, що введення токсичних доз ацетамінофену супроводжується інтенсифікацією утворення активних форм кисню, при цьому інтенсивність генерації супероксид аніон-радикала збільшується майже у 2,5 рази (рис. 1А), а гідроксильного радикала – у 1,7 рази порівняно з тваринами контрольної групи (рис. 1Б).

Відомо, що в основі токсичної дії ацетамінофену лежить його здатність індукувати вільнорадикальні процеси. Механізм гепатотоксичної дії ацетамінофену пов'язаний з його біотрансформацією в печінці системою цитохрому Р450 (CYP2E1), у результаті чого утворюється високореактивний і токсичний метаболіт – N-ацетил-*p*-бензохінонімін (NAPQI). За фізіологічних умов NAPQI швидко детоксифікується шляхом кон'югації з відновленим глутатіоном, утворюючи нетоксичні сполуки, що виводяться із сечею. Однак при надмірному надходженні ацетамінофену запаси глутатіону виснажуються, що призводить до накопичення вільного NAPQI. Згідно з сучасними уявленнями, ключовою ланкою токсичної дії ацетамінофену є здатність NAPQI ковалентно зв'язуватися з клітинними макромолекулами, насамперед мітохондріальними білками. Це ініціює інтенсивну генерацію активних форм кисню (АФК), зокрема супероксиду та гідроксильного радикала, що провокує розвиток оксидативного стресу. Наслідком цих вільнорадикальних процесів є глибоке структурно-функціональне ушкодження гепатоцитів та порушення їхнього гомеостазу (Jaeschke, Ramachandran, 2024). Окрім того, у тварин із токсичним ураженням відзначається накопичення продуктів вільнорадикального пошкодження ліпідів і протеїнів, зокрема ТБК-активних сполук (рис. 1В) та карбонільних похідних (рис. 1Г).

Отримані дані вказують на розвиток оксидативного стресу в організмі тварин за умов передозування ацетамінофену. Відомо, що гідроксильний радикал є одним із ключових ініціаторів процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), у ході якого відбувається окиснення поліненасичених жирних кислот. Одним із кінцевих продуктів ПОЛ є малоновий діальдегід, кількісне визначення якого здійснюють за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою з утворенням ТБК-активних продуктів (Ito et al., 2019). Водночас накопичення карбонільних похідних розглядається як інформативний показник вільнорадикального ушкодження протеїнів. Ці сполуки формуються внаслідок як первинного карбонілювання амінокислотних залишків треоніну, лізину, проліну та аргініну під дією АФК, так і вторинного карбонілювання, що відбувається опосередковано через взаємодію протеїнів із продуктами ПОЛ, зокрема малоновим діальдегідом або 4-гідроксиноненалем (Purdell et al., 2014).

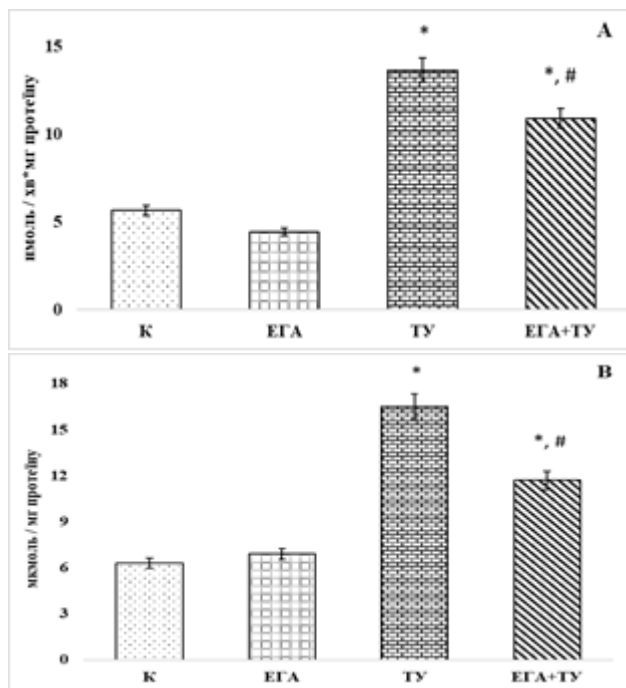


Рис. 1. Інтенсивність продукування супероксиду (А), гідроксильного радикалу (Б), вміст ТБК-активних продуктів (В) та карбонільних похідних протеїнів (Г) у мітохондріях печінки щурів за умов введення токсичних доз ацетамінофену та етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*

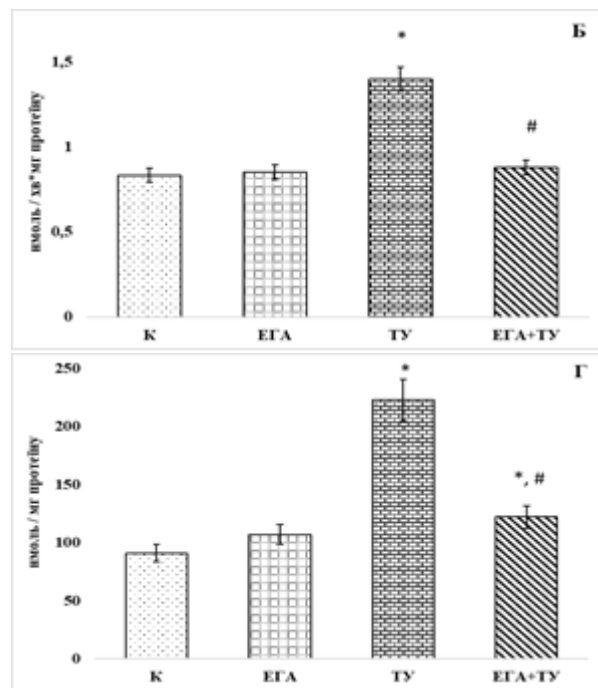


Fig. 1. Intensity of superoxide (A) and hydroxyl radical (B) generation, content of TBA-active products (B), and carbonyl protein derivatives (D) in rat kidney mitochondria under conditions of administration of toxic doses of acetaminophen and ethanol extract of the mushroom *Hericium alpestre*

Результати проведеного дослідження показали, що токсичне ураження ацетамінофеном порушує функціонування дихального ланцюга, про що свідчить зниження активності НАДН-дегідрогенази (рис. 2А) та сукцинатдегідрогенази (рис. 2Б) порівняно з контрольною групою. Ймовірно, причиною цих змін може бути мітохондріальний оксидативний стрес та ушкодження дихальних комплексів I і II, зокрема через утворення NAPQI-аддуктів та підвищення генерації АФК, що буде призводити до дисфункції дихального ланцюга та енергетичного дефіциту клітин печінки (Yan et al., 2018).

Актуальним напрямом сучасних досліджень є пошук природних джерел біологічно активних сполук з антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями для корекції оксидативного стресу. Перспективним джерелом таких сполук вважаються гриби, зокрема представники роду *Hericium*, які характеризуються широким спектром біоактивних компонентів. Водночас *Hericium alpestre* залишається недостатньо вивченим, що робить його перспективним об'єктом для дослідження та потенційного застосування у корекції токсичних уражень печінки, зокрема

індукованих ацетамінофеном (Kostanda et al., 2024).

Результати досліджень свідчать, що введення етанольного екстракту *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла не впливає на інтенсивність вільнорадикальних процесів у здорових тварин, що підтверджується відсутністю змін інтенсивності утворення супероксидного та гідроксильного радикалів, а також вмісту ТБК-активних продуктів і карбонільних похідних (рис. 1). Також екстракт не змінює активність НАДН-дегідрогенази (рис. 2А), але зумовлює незначне підвищення активності сукцинатдегідрогенази (рис. 2Б), у порівнянні з контролем. Водночас нами встановлено, що попереднє введення етанольного екстракту *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла перед моделюванням токсичного ураження призводить до зниження інтенсивності генерації супероксиду (рис. 1А) та наближення швидкості продукування гідроксильного радикала (рис. 1Б) до контрольних значень, а також достовірним зниженням вмісту ТБК-активних продуктів і карбонільних похідних (рис. 1В, 1Г). При цьому спостерігається підвищення активності НАДН-дегідрогенази та сукцинатдегідрогенази (рис. 2).

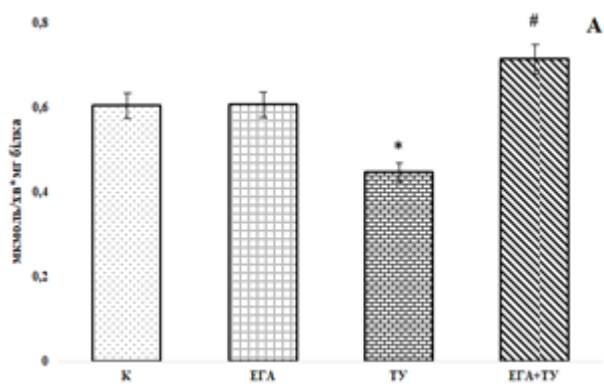


Рис. 2. НАДН-дегідрогеназна (А) та сукцинатдегідрогеназна (Б) активності у печінці щурів за умов введення токсичних доз ацетамінофену та етанольного екстракту гриба *Hericium alpestre*

Примітка (тут і надалі): К – контрольні тварини; ТУ – тварини, які отримували токсичну дозу ацетамінофену (1 г/кг); ЕГА – щури, які отримували етанольний екстракт *Hericium alpestre* 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла; ЕГА+ТУ – тварини, які перед моделюванням токсичного ураження отримували екстракт *Hericium alpestre* протягом 10 днів у дозі 200 мг/кг маси тіла;

* – статистично достовірна різниця порівняно з контролем, $p < 0,05$.

– статистично достовірна різниця порівняно з групою ТУ, $p < 0,05$.

Отримані результати свідчать, що етанольний екстракт *Hericium alpestre* проявляє антиоксидантну активність і зменшує оксидативне ушкодження мітохондріальних макромолекул гепатоцитів. Водночас екстракт стимулює процеси енергозабезпечення у тварин з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням, що може позитивно впливати на функціональну активність гепатоцитів. Проте подальшого дослідження потребує ідентифікація біоактивних сполук екстракту та з'ясування механізмів їхнього впливу на функціонування ферментів дихального ланцюга.

Висновки. Етанольний екстракт *Hericium alpestre* проявляє антиоксидантну активність і зменшує оксидативне ушкодження ліпідів і протеїнів печінки при токсичному ураженні ацетамінофеном. Попереднє введення екстракту знижує генерацію АФК та відновлює активність НАДН-дегідрогенази і сукцинатдегідрогенази,

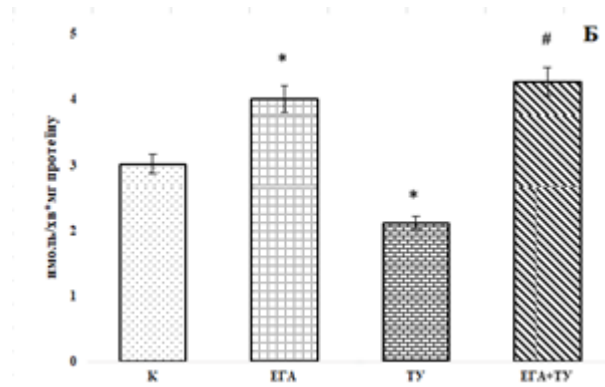


Fig. 2. NADH dehydrogenase (A) and succinate dehydrogenase (B) activity in the liver of rats under conditions of administration of toxic doses of acetaminophen and ethanolic extract of the mushroom *Hericium alpestre*

Note (hereinafter): C – control animals; AII – animals that received a toxic dose of acetaminophen (1 g/kg); EHA – rats that received ethanol extract of *Hericium alpestre* for 10 days at a dose of 200 mg/kg body weight; EHA+AII – animals that received *Hericium alpestre* extract at a dose of 200 mg/kg body weight for 10 days prior to modeling toxic damage;

* – significant difference with control group, $p < 0,05$

– significant difference with AII group, $p < 0,05$

покращуючи функціональний стан мітохондрій. Результати свідчать про його потенціал у захисті печінки та стимуляції енергетичного метаболізму. Подальші дослідження доцільно зосередити на вивченні механізмів впливу біологічно активних сполук екстракту *Hericium alpestre* на функціонування ферментів дихального ланцюга та їхні антиоксидантні властивості.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.

Подяки. Автори вдячні Пасайлюк М.В., заступнику директора з наукової роботи Національного природного парку "Гуцульщина", за надані для дослідження зразки плодових тіл гриба *Hericium alpestre*.

Список використаної літератури / References:

1. Akakpo, J.Y., Olivos, H., Shrestha, B., Midey, A., Jaeschke, H., Ramachandran A. (2024) Spatial analysis of renal acetaminophen metabolism and its modulation by 4-methylpyrazole with DESI mass spectrometry imaging. *Toxicol Sci*, 198 (2), 328-346. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfae011>
2. Chong, S., Fung, M.L., Wong, K.H., Lim, L.W. (2020) Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. *Int J Mol Sci*, 21, 163. [10.3390/ijms21010163](https://doi.org/10.3390/ijms21010163)
3. Gao, Y., Cao, Z., Yang, X., Abdelmegeed, M.A., Sun, J., Chen, S., ... Yu, L.R. (2017) Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential

- plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clin Appl*, 11 (1-2), 1-29. <https://doi.org/10.1002/prca.201600123>.
4. Gonkhom, D., Luangharn, T., Raghoonundon, B., Hyde, K., Stadler, M., Thongklang, N. (2021) *Hericium*: A review of the cultivation, health-enhancing applications, economic importance, industrial, and pharmaceutical applications. *Fung Biot*, 1 (2), 117-129. <https://doi.org/10.5943/FunBiotec/1/2/8>.
 5. Haidara, M.A., Al-Hashem, F., El Karib, A.O., Zaki, M.S., Kamar, S.S., El-Bidawy, M.H., Al-Ani, B. (2019) Inhibition of paracetamol-induced acute kidney damage in rats using a combination of resveratrol and quercetin. *Int. J. Morphol*, 37 (4), 1422-1428. <https://doi.org/10.3390/ijms25115949>
 6. Ito, F., Sono, Y., Ito, T. (2019) Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8 (3), 72. <https://doi.org/10.3390/antiox8030072>
 7. Jaeschke, H., Ramachandran, A. (2024) Ferroptosis and Intrinsic Drug-induced Liver Injury by Acetaminophen and Other Drugs: A Critical Evaluation and Historical Perspective. *J Clin Transl Hepatol*, 12(12), 1057-1066. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2024.00324>.
 8. Kopylchuk, G.P., Voloshchuk, O.M. (2015) NADH:ubiquinone reductase and succinate dehydrogenase activity in the liver of rats with acetaminophen-induced toxic hepatitis on the background of alimentary protein deficiency *The Ukrainian biochemical journal*, 87 (1), 121-126. <https://doi.org/10.15407/ubj87.01.127>
 9. Kostanda, E.; Musa, S.; Pereman, I. (2024) Unveiling the Chemical Composition and Biofunctionality of *Hericium* spp. Fungi: A Comprehensive Overview. *Int J Mol Sci*, 25, 5949. <https://doi.org/10.3390/ijms25115949>
 10. Kostenko, V.O., Tsebrzhins'kii, O.I. (2000) Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material. *Fiziol Zh*, 46 (5), 56-62. [Ukrainian]
 11. Marchenko M. M., Kopyl'chuk G. P., Voloshchuk O. M. (2011) Energy-producing enzymes activity of Guerin's carcinoma, transplanted on the low doses irradiation background. *Doklady NAN Ukrainy*, (1), 153-156. [Ukrainian].
 12. Parihar, M.S., Pandit, M.K. (2003) Free radical induced increase in protein carbonyl is attenuated by low doses of adenosine in hippocampus and mid brain: implication in neurodegenerative disorders. *Gen Physiol Biophys*, 22 (1), 29-39.
 13. Purdel NC., Margina D., Ilie M. (2014) Current methods used in the protein carbonyl assay. *Ann Res Rev Biol*, 4 (12), 2015-2026. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/8763>
 14. Rodrigues, T., de França, L.P., Kawai, C., de Faria, P.A., Mugnol, K.C., ...Nantes, I.L. (2007) Protective role of mitochondrial unsaturated lipids on the preservation of the apoptotic ability of cytochrome C exposed to singlet oxygen. *J Biol Chem*, 282 (35), 25577-87. doi: 10.1074/jbc.M700009200
 15. Tkachenko, M.M., Sahach, V.F., Baziliuk, O.V., Kotsiuruba, A.V., Popereka, H.M., Stepanenko, L.H., Seniuk, O.F. (2005) Age-related characteristics of contractile vascular reactions and the content of oxygen free radicals and nitric oxide metabolites in BALB/c mice in conditions of alienation zone. *Fiziol Zh*, 51 (3), 32-41. [Ukrainian].
 16. Yan, M, Huo, Y, Yin, S, Hu, H. (2018) Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biol*. 17, 274-283. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.019>

ACTIVITY OF RESPIRATORY CHAIN ENZYMES IN THE LIVER OF RATS WITH ACETAMINOPHEN-INDUCED TOXICITY TREATED WITH HERICIUM ALPESTRE ETHANOLIC EXTRACT

O. M. Voloshchuk, N. V. Vikol, O. S. Petrashchuk

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
e-mail: o.voloshchuk@chnu.edu.ua

The study is devoted to determining the liver status indicators under conditions of acetaminophen intoxication and administration of ethanol extract of the mushroom Hericium alpestre. The research was conducted on 4 groups of animals: K – control rats; TI – rats with modeled toxic injury; EGA – rats administered per os a 20% ethanolic extract of Hericium alpestre fruiting bodies at a dose of 200 µg/kg body weight for 10 days; EGA+TI – rats administered per os the 20% Hericium alpestre extract for 10 days prior to modeling the acetaminophen-induced injury. It was established that an overdose of acetaminophen is accompanied by the development of pronounced oxidative stress in the liver tissue, as evidenced by an increase in the generation of superoxide anion radical (O₂•-) by almost 2.5 times, and hydroxyl radical (HO•) – by 1.7 times compared to the control. The increased production of reactive oxygen species is accompanied by the accumulation of free radical damage products of lipids and proteins, in particular TBA-

active products and carbonyl derivatives, as well as a significant inhibition of the activity of NADH dehydrogenase (complex I) and succinate dehydrogenase (complex II) of the mitochondrial respiratory chain. It has been shown that the preliminary administration of ethanol extract of *Herichium alpestre* before modeling toxic damage with acetaminophen leads to a decrease in the intensity of superoxide generation, and the level of hydroxyl radicals approaches control values. At the same time, animals of this group have a significant decrease in the content of TBA-active products and carbonyl derivatives, as well as an increase in the activity of NADH dehydrogenase and succinate dehydrogenase compared to animals with acetaminophen-induced intoxication that did not receive the extract. The results obtained indicate that the ethanol extract of the mushroom *Herichium alpestre* exhibits a pronounced antioxidant effect and reduces the manifestations of oxidative damage to the main macromolecules of liver cells, contributing to the partial restoration of mitochondrial function under conditions of acetaminophen overdose.

Keywords: acetaminophen, liver, *Herichium alpestre* ethanolic extract, oxidative stress markers, NADH dehydrogenase, succinate dehydrogenase.

Отримано редколегією 01.11.2025 р.

ORCID ID

Оксана Волощук: <https://orcid.org/0000-0002-6005-3732>