

## НЕЕНЗИМАТИЧНА ЛАНКА ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ В КЛІТИНАХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ АЦЕТАМІНОФЕНОМ НА ТЛІ ПРЕВЕНТИВНОГО ВВЕДЕННЯ СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ ПЛОДОВИХ ТІЛ *HERICIUM FLAGELLUM*

Г. П. КОПИЛЬЧУК, Т. І. ЧЕРВАТЮК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012  
e-mail: [g.kopilchuk@chnu.edu.ua](mailto:g.kopilchuk@chnu.edu.ua)

Ацетамінофен є одним із найпоширеніших анальгетичних та антипіретичних лікарських засобів, однак його передозування призводить до токсичного ураження печінки. У патогенезі ацетамінофен-індукованої гепатотоксичності ключову роль відіграє оксидативний стрес та виснаження системи глутатіону, що призводить до порушення окисно-відновного гомеостазу клітин та пошкодження мітохондрій. У зв'язку з цим видається актуальним пошук природних джерел антиоксидантів, здатних зменшувати прояви токсичного впливу ацетамінофену. Наш науковий інтерес викликав вид *Hericium flagellum*, поширений на території Покутсько-Буковинських Карпат. У статті представлено результати дослідження неензиматичної ланки глутатіонової системи в цитозолі та мітохондріях клітин печінки щурів за умов їх токсичного ураження ацетамінофеном на тлі попереднього введення спиртового екстракту грибів *Hericium flagellum*. Експериментальних тварин розділили на 4 групи: С – контрольні щури; ЕНf – щури, яким протягом 10 діб перорально вводили спиртовий екстракт плодів тіл *Hericium flagellum*; АП – щури з модельованим гострим токсичним ураженням ацетамінофеном; ЕНf+АП – щури, яким вводили екстракт *Hericium flagellum* протягом 10 діб перед моделюванням гострого токсичного ураження. Цитозольну та мітохондріальну фракції виділяли з гомогенату тканин печінки щурів методом диференційного центрифугування. Концентрацію відновленого глутатіону (GSH) визначали з використанням реактиву Елмана для депротейнізованих проб. Окислену форму глутатіону (GSSG) переводили у відновлену за допомогою цинкового пилу. Суму відновленого за допомогою цинкового пилу глутатіондисульфідів та відновленого глутатіону в пробі вважали загальним глутатіоном (GSH+GSSG). Кількість глутатіондисульфідів визначали як різницю між кількістю загального та відновленого глутатіону в пробі. Оптичну густину дослідних зразків визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 412 нм. Встановлено, що передозування ацетамінофену призводить до дисбалансу форм глутатіону в клітинах печінки, що супроводжується зниженням показника індексу їх співвідношення в 2,6 рази в цитозолі та у 4 рази – в мітохондріях. Натомість, за умов превентивного введення спиртового екстракту плодів тіл *Hericium flagellum* спостерігається тенденція до відновлення окисно-відновної рівноваги в досліджуваних компартментах клітин печінки – індекс співвідношення двократно зростає порівняно з групою тварин з токсичним ураженням. Отримані результати вказують на перспективність використання спиртового екстракту *Hericium flagellum* як потенційного джерела біоактивних сполук з антиоксидантними властивостями.

**Ключові слова:** глутатіон, цитозоль, мітохондрії, ацетамінофен, токсичне ураження, спиртовий екстракт *H. flagellum*

**Вступ.** Ацетамінофен (парацетамол, АРАР) – поширений лікарський засіб із вираженою анальгетичною та антипіретичною (жарознижувальною) дією. У терапевтичних дозах препарат вважається безпечним та ефективним, однак передозування часто призводить до токсичного ураження печінки та розвитку гострої печінкової недостатності (Jaeschke, Ramachandran, 2024). Гепатотоксична дія ацетамінофену є наслідком утворення токсичних метаболітів у процесі його біотрансформації та індукції інтенсивного вільнорадикального окислення. Частина ацетамінофену метаболізується в печінці системою цитохрому Р450, внаслідок чого

утворюється високореактивний метаболіт – N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPQI). NAPQI швидко детоксикується шляхом кон'югації з відновленим глутатіоном (GSH), утворюючи нетоксичні комплекси, які згодом екскретуються з сечею (Chidiac et al., 2023). Інтенсивність прооксидантного впливу АРАР тісно пов'язана з антиоксидантним потенціалом глутатіонової системи. Надмірні дози ацетамінофену призводять до окислення глутатіону з виснаженням запасів відновленої форми. Подальше відновлення глутатіондисульфідів (GSSG) за участю NADPH-залежної глутатіонредуктази (EC 1.8.1.7, GR) призводить до виснаження внутрішньоклітинних

запасів NADPH (Vairetti et al., 2021). Це, у свою чергу, обмежує антиоксидантну здатність клітин, зумовлюючи накопичення активних форм кисню (ROS).

Ключову роль у патогенезі АРАР-індукованого ураження печінки відіграє мітохондріальний оксидативний стрес. NAPQI реагує з сульфгідрильними групами цистеїну, утворюючи аддукти з мітохондріальними білками. Внаслідок цього інгібуються комплекси дихального ланцюга, що призводить до витоку електронів та утворення супероксидних радикалів (Ramachandran et al., 2024). ROS інтенсифікують вільнорадикальні процеси, призводять до порушення гомеостазу та врешті-решт – до загибелі гепатоцитів.

Розповсюдженість явища передозування АРАР зумовлена його широкою доступністю та входженням до складу багатьох комбінованих лікарських засобів (Chidiac et al., 2023). Крім того, неконтрольоване вживання ацетамінофену – досить поширене явище під час спалахів інфекційних та запальних захворювань (зокрема, COVID-19) та під час військових дій в Україні. З огляду на це, пошук природних антиоксидантів є одним із актуальних завдань науковців. У контексті даної проблеми на особливу увагу заслуговують гриби.

Їстівні гриби збагачені білками, клітковиною, вітамінами та ще здавна використовуються у традиційній медицині. Лікувальні властивості грибів пояснюються наявністю в їхніх плодових тілах різноманітних біологічно активних сполук – алкалоїдів, флавоноїдів, терпенів, стероїдів, полісахаридів та резорцинолів. У представників роду *Hericium*, крім раніше зазначених, ідентифікували ще специфічні речовини – еринацини, гериценони, герицерини, коралоцини та ерготіонеїн. (Kostanda et al., 2024; Yadav et al., 2020). Зважаючи на це, екстракти, виготовлені з *Hericium spp.*, є об'єктом багатьох біомедичних досліджень. Доведено їх антиоксидантний, антимікробний, протипухлинний, імуномодулюючий, нейро-, гастро- та гепатопротекторний, антигіперглікемічний, антигіперліпідемічний ефекти (Hetland et al., 2020; Kostanda et al., 2024).

З огляду на все сказане вище нашу увагу привернув вид *Hericium flagellum*, відомий також як Геричій джгутиковий або альпійський. У багатьох країнах Європи цей гриб внесений до Червоної книги та вивчений недостатньо. Проте на території Покутсько-Буковинських Карпат зустрічається декілька місцезростань *H. flagellum*.

**Матеріали та методи.** Експеримент проводили на білих безпородних щурах віком 3-4 місяці та середньою вагою 200-250 г. Дослідження

проводилося відповідно до чинних вимог та стандартів гуманного поводження з тваринами («Європейська конвенція про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986); Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами, внесеними Законом № 5456-VI від 16.10.2012 р.); положення, викладені в Посібнику Національного інституту охорони здоров'я (НІН) з догляду та використання лабораторних тварин), відповідно до рішення Комітету з біоетики наукових досліджень Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (Протокол № 1 від 04.04.2024). Під час дослідження тварин утримували в пластикових клітках для гризунів з підстилкою зі спеціалізованою тирсою. Щури отримували повноцінний раціон і мали вільний доступ до попередньо стерилізованої води.

Експериментальних тварин розділили на групи: С – контрольні тварини; ЕНf – тварини, яким протягом 10 діб перорально вводили спиртовий екстракт плодових тіл *Hericium flagellum* у концентрації 200 мг/кг маси тіла; АП – тварини з модельованим токсичним ураженням, яким перорально вводили ацетамінофен з розрахунку 1250 мг/кг маси тіла; ЕНf+АП – тварини, яким попередньо вводили екстракт *Hericium flagellum* у концентрації 200 мг/кг маси тіла протягом 10 діб перед моделюванням гострого токсичного ураження ацетамінофеном.

Модель гострого токсичного ураження відтворювали шляхом введення *per os* ацетамінофену у вигляді 2 % суспензії в крохмальному гелі в дозі 1250 мг на кг маси тіла тварини одноразово на добу протягом 2 днів.

Спиртовий екстракт виготовляли з плодових тіл гриба *Hericium flagellum*, отриманого від Національного природного парку «Гуцульщина» у межах співпраці з кафедрою біохімії та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Екстракцію проводили за модифікованим нами методом Boonsong et al. (2016). Як екстрагент використовували 70 % етанол. Етанол вважають найефективнішим екстрагентом для отримання антиоксидантних сполук, згідно з Jiang et al. (2016).

5 г порошку плодових тіл гриба додавали до 50 мл 70 % етанолу та струшували при 150 об/хв за кімнатної температури упродовж 24 годин; потім 15 хв. центрифугували при 12 000 об/хв. Супернатант фільтрували через фільтрувальний папір Whatman та відбирали фільтрат. Залишок екстрагували вдруге за аналогічних умов. Отриманий екстракт концентрували з

використанням роторного випарника під вакуумом при 40°C, після чого зберігали при 4°C.

Фракцію мітохондрій отримували з тканин печінки з використанням методики диференційного центрифугування. До складу буферу для гомогенізації входили: 0,25 М розчин сахарози, 0,001 М розчин EDTA, 0,03 М трис-НСІ (рН 7,4). Отриману фракцію двічі промивали гомогенізаційним буфером без додавання EDTA.

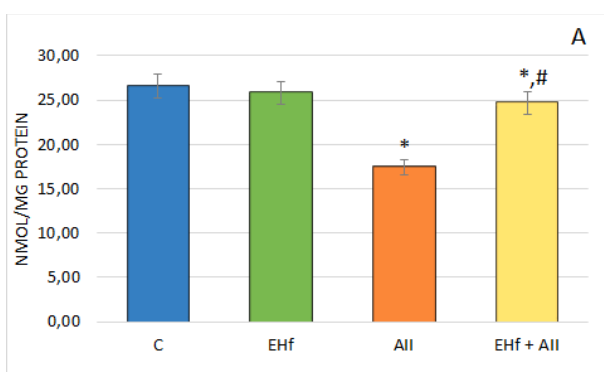
Для виділення цитозольної фракції до супернатанту, одержаного після осадження ядер та мітохондрій, додавали 0,08 М CaCl<sub>2</sub> та 0,16 М MgCl<sub>2</sub> у 0,01 М трис-НСІ буфері (рН 7,4) у пропорції 9:1. Суміш перемішували протягом 10 хв на магнітній мішалці, після чого центрифугували 10 хв при 10000 g. Супернатант, отриманий після осадження мікросом, використовували як цитозольну фракцію.

Концентрацію відновленого глутатіону визначали з використанням реактиву Елмана для депротейнізованих проб. В основі методу лежить взаємодія 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислоти з вільними тіоловими групами глутатіону. Кількість забарвленого тіонітрофенільного аніону, що утворюється в реакції, прямо пропорційна до кількості сульфгідрильних груп глутатіону. Окислену форму глутатіону переводили у

відновлену за допомогою цинкового пилу. Суму відновленого за допомогою цинкового пилу глутатіондисульфїду та відновленого глутатіону в пробі вважали загальним глутатіоном (GSH+GSSG). Кількість глутатіондисульфїду визначали як різницю між кількістю загального та відновленого глутатіону в пробі. Оптичну густину дослідних зразків вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 412 нм. Концентрацію протеїну в пробах визначали за методом Лоурі.

Статистичний аналіз здійснювали з допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel. Результати подано як середнє значення (М) ± стандартна похибка (m). Міжгрупову статистичну вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Різницї вважали статистично вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Згідно з результатами дослідження в цитозольній фракції клітин печінки тварин з токсичним ураженням (АІІ) відбувається зниження рівня відновленого глутатіону в 1,5 рази (рис. 1, А) з одночасним підвищенням вмісту глутатіондисульфїду в 1,7 рази порівняно з контрольними величинами (рис. 1, В).



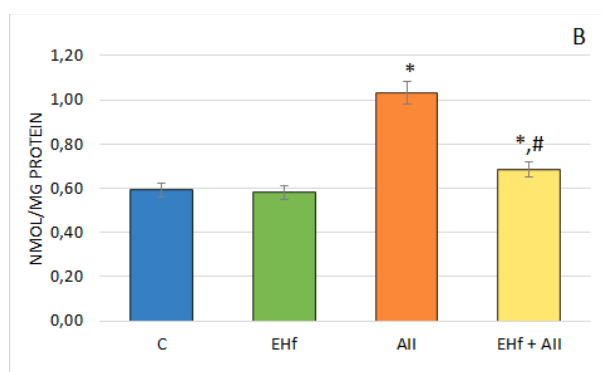
**Рис. 1.** Вміст відновленого (А) та окисленого (В) глутатіону в цитозольній фракції клітин печінки щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі превентивного введення спиртового екстракту *Hericium flagellum*

Примітка (тут і надалі): С – контрольні щури; EHf – щури, яким протягом 10 днів вводили спиртовий екстракт *H. flagellum*; АІІ – щури з гострим токсичним ураженням; EHf+АІІ – щури, яким перед моделюванням токсичного ураження 10 днів вводили спиртовий екстракт *H. flagellum*.

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

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

Зменшення кількості відновленого глутатіону в клітинах печінки щурів з токсичним ураженням, ймовірно, пов'язане з витратою його на нейтралізацію NAPQI. Водночас за умов



**Fig. 1.** Concentrations of reduced (A) and oxidised (B) glutathione in the cytosolic fraction of rat liver cells following acetaminophen-induced toxicity, with preventive administration of an ethanolic extract of *Hericium flagellum*

Note (here and below): C – control rats; EHf – rats administered an ethanolic extract of *H. flagellum* for 10 days; AII – rats with acetaminophen-induced injury; EHf+AII – rats administered an ethanolic extract of *H. flagellum* for 10 days prior to the modelling of acetaminophen-induced injury.

\* – statistically significant difference compared with the control,  $p < 0.05$ .

# – statistically significant difference compared with group AII,  $p < 0.05$ .

оксидативного стресу GSH може посилено використовуватись у глутатіонтрансферазній чи глутатіонпероксидазній реакціях. Крім того, дефіцит NADPH призводить до зниження

активності GR, пригнічуючи регенерацію окисленої форми до відновленої.

У групі щурів, яким протягом 10 днів перед моделюванням гострого токсичного ураження вводили екстракт гриба *H. flagellum* (EHf+АП), спостерігається часткове відновлення балансу між формами глутатіону. Вміст відновленого глутатіону наближається до рівня контролю, зростаючи на 41 % порівняно з групою АП, водночас кількість глутатіондисульфіду зменшується на 34 % – різниця з контролем знаходиться на рівні 7 %.

Ми припускаємо, що біоактивні компоненти екстракту *H. flagellum* сприяють підтриманню стабільності пулу GSH шляхом нейтралізації ROS, які генеруються в клітинах печінки внаслідок передозування АРАР. Антиоксидантні властивості екстракту можуть зумовлюватися наявністю у плодкових тілах гриба фенолів та флавоноїдів, здатних знешкоджувати гідроксильні радикали, підвищувати активність антиоксидантних ензимів та хелатувати перехідні метали, залучені до ініціації вільнорадикальних реакцій (Hussain et al., 2016). Згідно з даними літератури, екстракти грибів роду *Hericium* містять повний спектр есенціальних амінокислот (Корупчук et al., 2023). З огляду на це, екстракт може слугувати джерелом амінокислот-попередників глутатіону, підтримуючи його біосинтез за умов оксидативного стресу.

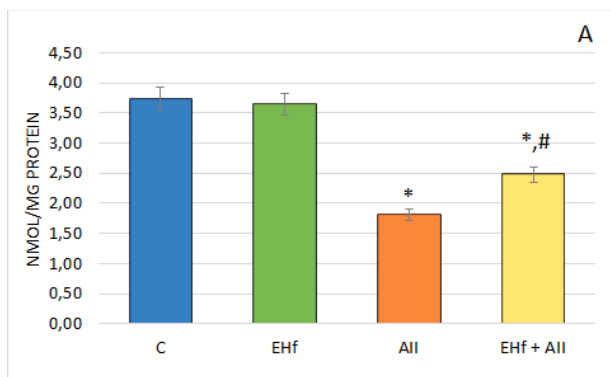


Рис. 2. Вміст відновленого (А) та окисненого (В) глутатіону в мітохондріальній фракції клітин печінки щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі превентивного введення спиртового екстракту *Hericium flagellum*

У групі інтактних тварин, яким вводили екстракт плодкових тіл *H. flagellum*, також не виявлено статистично вірогідних змін рівнів глутатіону порівняно з групою контролю. У щурів з модельованим гострим токсичним ураженням в мітохондріях зафіксовано зниження вмісту mGSH на 50 % відносно контрольних величин (Рис. 2, А) з одночасним зростанням рівня GSSG (рис. 2, В).

Зазначимо, що десятиденне введення спиртового екстракту інтактним тваринам не впливало на кількість відновленого та окисненого глутатіону в досліджуваній фракції.

Наступним логічним етапом нашої роботи стало дослідження аналогічних показників у мітохондріальній фракції. Мітохондрії є центральною мішенню токсичного впливу АРАР (Ramachandran, Jaeschke, 2023). Утворення білкових аддуктів у мітохондріях призводить до порушення спряження електронно-транспортного ланцюга, запускаючи витік електронів з I і III комплексів (Jaeschke, Ramachandran, 2024).

Внаслідок цього мітохондрії потребують ефективного контролю рівня ROS за участі антиоксидантних систем. Глутатіон та пов'язані з ним ензими є важливою ланкою захисту органел від пошкоджень. Під час патологій печінки GSH забезпечує захист гепатоцитів, контролюючи рівні ROS та знешкоджуючи пероксиди. Виснаження пулу мітохондріального глутатіону (mGSH) супроводжується порушенням функцій мітохондрій та інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів (Lu, 2020). Мітохондрії вважають чутливішим індикатором ушкодження клітин, а виснаження mGSH зазвичай тісніше пов'язане з розвитком токсичного ураження (Marí et al., 2020).

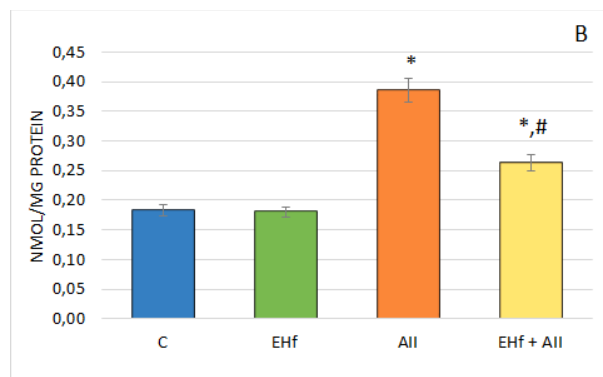
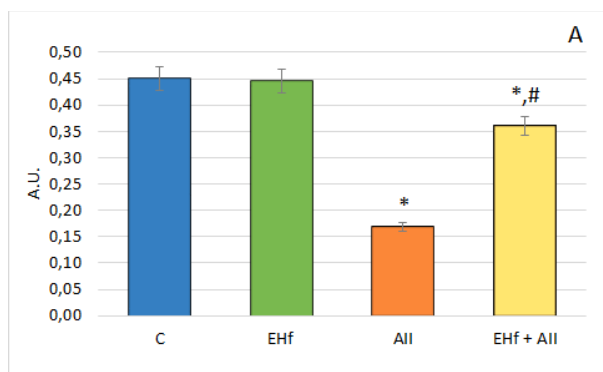


Fig. 2. Concentrations of reduced (A) and oxidised (B) glutathione in the mitochondrial fraction of rat liver cells following acetaminophen-induced toxicity, with preventive administration of an ethanolic extract of *Hericium flagellum*

За умов превентивного введення спиртового екстракту *H. flagellum* вміст відновленого глутатіону зростає на 40 % порівняно з групою АП з одночасним зниженням вмісту окисленої форми порівняно з відповідними показниками у групі АП.

Клітинний глутатіон переважно знаходиться у відновленому стані, вміст окисленої форми підтримується на низькому рівні завдяки активності GR (Lu, 2020). Це пов'язано з

необхідністю обмежувати утворення змішаних з білками дисульфідів (Vairetti et al, 2021). Тому клітинний баланс між формами глутатіону слугує динамічним показником оксидативного



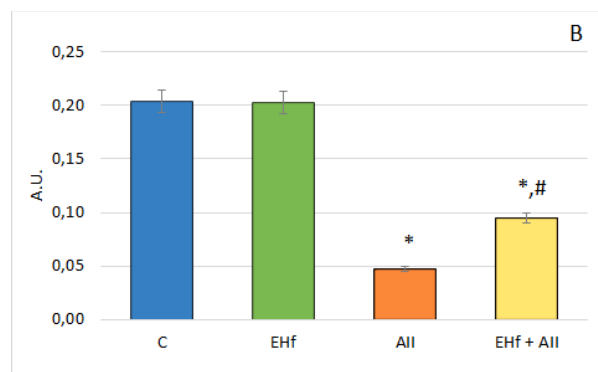
**Рис. 3.** Індекс співвідношення форм глутатіону в цитозольній (А) та мітохондріальній (В) фракціях клітин печінки щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі превентивного введення спиртового екстракту *Hericium flagellum*

Він часто використовується як індикатор прооксидантно/ антиоксидантного балансу клітин або маркер клітинної токсичності в експериментальних моделях (Marí et al., 2020). Крім того, він є регулятором редокс-сигналіngu, контролює експресію низки GSH-залежних ензимів, процеси клітинного циклу та регуляцію активності ензимів через S-глутатіонування протеїнів (Vairetti et al, 2021).

Аналіз індексу співвідношення форм глутатіону в цитозольній фракції (Рис. 3, А) клітин печінки щурів з групи АІІ продемонстрував порушення окисно-відновного балансу глутатіону, що супроводжується статистично достовірним зниженням оцінюваного показника в 2,6 рази. У мітохондріях (Рис. 3, В) гостре токсичне ураження характеризується зменшенням величини індексу співвідношення в 4 рази відносно групи контрольних тварин. Окислювальний стрес у мітохондріях виражений значно сильніше, що пов'язано з посиленням продукування ROS в цьому клітинному компартменті.

На відміну від цитозолу, де за стресових умов GSSG експортується з клітини, мітохондрії позбавлені такого механізму елімінації. Тому підтримання окисно-відновного балансу залежить від ефективності внутрішньомітохондріальної регенерації, яка потребує NADPH та активності GR (Vairetti et al, 2021). Підвищення рівня GSSG, виявлене у мітохондріях клітин печінки щурів групи АІІ, може свідчити про обмеження відновлювальних процесів за умов оксидативного стресу.

стресу. Індекс співвідношення форм глутатіону – це інструмент, що дозволяє виявити порушення окисно-відновного метаболізму.



**Fig. 3.** The ratio index of glutathione forms in the cytosolic (A) and mitochondrial (B) fractions of rat liver cells following acetaminophen-induced toxicity, with preventive administration of an ethanolic extract of *Hericium flagellum*

Превентивне введення екстракту *H. flagellum* перед моделюванням токсичного ураження сприяло двократному збільшенню величини показника індексу співвідношення у досліджуваних фракціях порівняно зі значеннями групи щурів з токсичним ураженням. Зростання рівня індексу GSH/GSSG відображає зміни в бік відновлення співвідношення між формами глутатіону та тенденцію до нормалізації редокс-потенціалу в клітинних компартментах. Така динаміка вказує на посилення антиоксидантного потенціалу клітин печінки та підтримання окисно-відновної рівноваги за умов введення спиртового екстракту *Hericium flagellum*. При цьому різниця показника з контрольними значеннями у мітохондріях залишається значною, що співвідноситься з інтенсивністю ушкодження мітохондрій за умов ацетамінофен-індукованої токсичності.

**Висновки.** Отримані результати свідчать про виснаження пулу відновленого глутатіону та зниження редокс-буферної здатності клітин печінки за умов гострого токсичного ураження ацетамінофеном. Порушення балансу в системі GSH/GSSG та зниження показника індексу співвідношення у мітохондріях та цитозолі відображає переважання прооксидантних процесів над антиоксидантними.

Натомість превентивне введення спиртового екстракту плодів тіл *Hericium flagellum* сприяє посиленню антиоксидантного потенціалу клітин печінки, збільшуючи величини показника індексу співвідношення форм глутатіону в досліджуваних фракціях вдвічі порівняно з

аналогічними показниками в групі ацетамінофен-індукованого ураження.

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

#### Список літератури / References:

1. Boonsong, S., Wilaipun, P., Klaypradit, W. (2016). Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. *Agriculture and Natural Resources*, 50(2), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2015.07.002>
2. Chidiac, A. S., Buckley, N. A., Noghrehchi, F., Cairns, R. (2023). Paracetamol (acetaminophen) Overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, Prevention measures, and Estimates of Burden of Disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 19(5), 297–317. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>
3. Hetland, G., Tangen, J.-M., Mahmood, F., Mirlashari, M. R., Nissen-Meyer, L. S. H., Nentwich, I., Therkelsen, S. P., Tjønnfjord, G. E., Johnson, E. (2020). Antitumor, Anti-inflammatory and Antiallergic Effects of Agaricus blazei Mushroom Extract and the Related Medicinal Basidiomycetes Mushrooms, *Hericium erinaceus* and *Grifola frondosa*: A Review of Preclinical and Clinical Studies. *Nutrients*, 12(5), 1339. <https://doi.org/10.3390/nu12051339>
4. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
5. Jaeschke, H., Ramachandran, A. (2024). Acetaminophen Hepatotoxicity: Paradigm for Understanding Mechanisms of Drug-Induced Liver Injury. *Annual Review of Pathology–Mechanisms of Disease*, 19(1), 453–478. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-051122-094016>
6. Jiang, J., Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>
7. Kopylchuk, H., Voloshchuk, O., Pasailiuk, M. (2023). Comparison of total amino acid compositions, total phenolic compounds, total flavonoid content,  $\beta$ -carotene content and hydroxyl radical scavenging activity in four wild edible mushrooms. *Italian Journal of Mycology*, 52(1), 112–125. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/16457>
8. Kostanda, E., Musa, S., Pereman, I. (2024). Unveiling the Chemical Composition and Biofunctionality of *Herichium* spp. Fungi: A Comprehensive Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5949. <https://doi.org/10.3390/ijms25115949>
9. Lu, S. C. (2020). Dysregulation of glutathione synthesis in liver disease. *Liver Research*, 4(2), 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2020.05.003>
10. Marí, M., de Gregorio, E., de Dios, C., Roca-Agujetas, V., Cucarull, B., Tutusaus, A., Morales, A., Colell, A. (2020). Mitochondrial Glutathione: Recent Insights and Role in Disease. *Antioxidants*, 9(10), 909. <https://doi.org/10.3390/antiox9100909>
11. Ramachandran, A., Akakpo, J. Y., Curry, S. C., Rumack, B. H., Jaeschke, H. (2024). Clinically relevant therapeutic approaches against acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Biochemical Pharmacology*, 228(116056). <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116056>
12. Ramachandran, A., Jaeschke, H. (2023). Mitochondria in Acetaminophen-Induced Liver Injury and Recovery: A Concise Review. *Livers*, 3(2), 219–231. <https://doi.org/10.3390/livers3020014>
13. Vairetti, M., Di Pasqua, L. G., Cagna, M., Richelmi, P., Ferrigno, A., Berardo, C. (2021). Changes in Glutathione Content in Liver Diseases: An Update. *Antioxidants*, 10(3), 364. <https://doi.org/10.3390/antiox10030364>
14. Yadav, S. K., Ir, R., Durairajan, S. S. K., Jeewon, R., Doble, M., Hyde, K. D., Kaliappan, I., Jeyaraman, R., Reddi, R. N., Krishnan, J., Li, M. (2020). A Mechanistic Review on Medicinal Mushrooms-Derived Bioactive Compounds: Potential Mycotherapy Candidates for Alleviating Neurological Disorders. *Planta Medica*, 86(16), 1161–1175. <https://doi.org/10.1055/a-1177-4834>

**Подяки.** Автори щиро вдячні заступнику директора з наукової роботи Національного природного парку «Гуцульщина» Пасайлюк М. В. за надання зразків плодових тіл гриба *Herichium flagellum*, використаних у дослідженні.

# THE NON-ENZYMATIC COMPONENT OF THE GLUTATHIONE SYSTEM IN RAT LIVER CELLS UNDER CONDITIONS OF ACETAMINOPHEN TOXICITY FOLLOWING PREVENTIVE ADMINISTRATION OF AN ETHANOLIC EXTRACT OF *HERICIUM FLAGELLUM* FRUITING BODIES

H. P. Kopylchuk, T. I. Chervatiuk

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

Acetaminophen is one of the most widely used analgesic and antipyretic drugs; however, its overdose leads to toxic liver injury. Oxidative stress and depletion of the glutathione system play a pivotal role in the pathogenesis of acetaminophen-induced hepatotoxicity, resulting in disruption of cellular redox homeostasis and mitochondrial damage. Therefore, the search for natural sources of antioxidants capable of mitigating the toxic effects of acetaminophen remains highly relevant. Our scientific interest was drawn to *Heridium flagellum*, a fungal species distributed in the Pokuttya-Bukovyna Carpathian region. This article presents the results of a study on the non-enzymatic component of the glutathione system in the cytosol and mitochondria of rat liver cells under conditions of acetaminophen-induced toxic injury following the preventive administration of an ethanolic extract of *Heridium flagellum* fruiting bodies. The experimental animals were divided into four groups: C – control rats; EHf – rats administered an ethanolic extract of *Heridium flagellum* fruiting bodies orally for 10 days; AII – rats with experimentally induced acute liver injury; and EHf+AII – rats that administered the *Heridium flagellum* extract for 10 days prior to the induction of acute toxic injury. Cytosolic and mitochondrial fractions were isolated from rat liver tissue homogenates by differential centrifugation. The concentration of reduced glutathione (GSH) was determined in deproteinized samples using Ellman's reagent. Oxidized glutathione (GSSG) was reduced to GSH using zinc dust. The sum of zinc-reduced glutathione disulfide and reduced glutathione was considered total glutathione (GSH + GSSG). The amount of glutathione disulfide was calculated as the difference between total glutathione and reduced glutathione in the sample. The optical density of the samples was measured spectrophotometrically at a wavelength of 412 nm. Acetaminophen overdose was found to induce an imbalance between glutathione forms in liver cells, accompanied by a 2.6-fold decrease in the glutathione redox ratio index in the cytosol and a 4-fold decrease in the mitochondrial fraction. In contrast, preventive administration of the ethanolic extract of *Heridium flagellum* fruiting bodies tended to restore redox balance in the investigated compartments of liver cells, as evidenced by a twofold increase in the glutathione redox ratio index compared with the group of animals with toxic injury. The obtained results indicate the promising potential of the ethanolic extract of *Heridium flagellum* as a natural source of biologically active compounds.

Keywords: glutathione, cytosol, mitochondria, acetaminophen, toxic damage, ethanol extract of *H. flagellum*

Отримано редколегією 10.05.2026 р.  
Підписано до друку 15.06.2026 р.  
Дата публікації 30.06.2026 р.

## ORCID ID

Галина Копильчук: <https://orcid.org/0000-0002-2906-4927>