

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**КОТИК БОГДАН ІВАНОВИЧ**

УДК 577.1:577.12:661.28:577.161.3:678.048:546.766:577.334

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ ТА  
ВІТАМІНУ Е НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ НА  
ТЛІ ДІЇ Cr(VI)**

Спеціальність 091 – «Біологія та біохімія»

Галузь знань 09 – «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ Б. І. Котик

Науковий керівник: Іскра Руслана Ярославівна, доктор біологічних наук, професор

Львів – 2024

## АНОТАЦІЯ

**Котик Б. І. Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів на тлі дії Cr(VI).**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 091 – «Біологія та біохімія» (09 – «Біологія»). – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2024.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу новосинтезованого етилтіосульфанілату (ЕТС) та вітаміну Е на гематологічний профіль, стан системи антиоксидантного захисту, ліпідного та протеїнового обміну у крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу.

Хром шестивалентний (Cr(VI)) є представником важких металів, який характеризується потужними токсичними та канцерогенними властивостями. В останні десятиліття значно зросла інтенсивність забруднення навколишнього середовища сполуками Cr(VI) внаслідок підвищення активності антропогенної діяльності та промислового сектору. Лише в США протягом року в повітря викидається 900–970 тон Cr(VI), в основному внаслідок промислового спалювання нафти та вугілля, буріння нафтових свердловин, виробництва пігментів та добрив, дублення шкіри та нанесення гальванічних покриттів. Накопичення сполук Cr(VI) у воді, повітрі та ґрунтах створює ризик інтоксикації живих організмів та людини зокрема. Висока частота отруєння сполуками Cr(VI) спостерігається серед працівників галузей промисловості, які контактують з хромовою кислотою, обробляють хромітову руду, зварюють сталь, виготовляють пігменти та фарби. Вдихання сполук Cr(VI) підвищує ризик виникнення раку легень, а вживання води з відповідним важким металом може призводити до розвитку раку печінки. Негативний вплив Cr(VI) призводить до цитотоксичності, мутагенезу, канцерогенезу та ушкодження таких органів, як печінка, нирки, легені, шкіра, селезінка, серце, мозок.

Одним із основних механізмів токсичності Cr(VI) є оксидативний стрес, який спричиняє накопичення активних форм кисню (АФО), окисну модифікацію протеїнів, ліпідів, нуклеїнових кислот, порушує функціонування системи антиоксидантного захисту (АОЗ) та метаболічні процеси у клітинах. З огляду на це, пошук сполук, які здатні зменшувати негативний вплив оксидативного стресу є

важливим напрямком у протидії та попередженні токсичного впливу Cr(VI). В останні роки активно проводяться дослідження властивостей антиоксидантних сполук, які запобігають Cr(VI)-індукованому дисбалансу системи АОЗ. Зокрема, природні сульфуроорганічні біологічно активні речовин (БАР), отримані з рослин, демонструють позитивні властивості та знижують інтенсивність оксидативного стресу спричиненого дією Cr(VI). У свою чергу, численні дослідження описують побічні ефекти та токсичний вплив природних сульфуроорганічних БАР в залежності від дози та тривалості впливу. Також, молекули відповідних сполуки є нестабільними, швидко розкладаються та метаболізуються до вторинних продуктів, що у свою чергу може бути причиною зниження ефективності їх застосування. У зв'язку з цим, актуальним завданням є пошук аналогічних більш стабільних сполук, які безпечні для організму, легко засвоюються, доступні і дешеві у виробництві та водночас ефективно запобігають Cr(VI)-індукованому оксидативному стресу.

Етилтіосульфанілат (ЕТС) є представником класу сполук тіосульфонатів (естерів тіосульфокислот) та синтетичним аналогом природних сульфуроорганічних БАР рослинного походження. Відомо, що молекулярна структура тіосульфонатів є більш стабільною у порівнянні з їх природними аналогами. Дослідження властивостей ЕТС показали, що відповідна сполука є нетоксичною, добре засвоюється організмом, характеризується рядом позитивних властивостей по відношенню до метаболічних процесів в організмі тварин. Важливо також те, що ЕТС проявляє антиоксидантну дію шляхом зниження рівня вільних радикалів, накопичення пулу неензиматичних антиоксидантів та активації ензимів системи АОЗ. Проте, відсутні дані про вплив ЕТС на систему АОЗ та метаболічні процеси в організмі за умов інтоксикації важкими металами і Cr(VI) зокрема. Тому, дослідження біологічних властивостей ЕТС дасть змогу оцінити ефективність відповідної сульфуроорганічної сполуки як потенційного протектора за умов інтоксикації Cr(VI). Відомо також, що поєднаний вплив антиоксидантів та вітамінів сприяє більш ефективній компенсації оксидативного стресу та метаболічних порушень, спричинених токсичністю важких металів. З огляду на це, важливо також дослідити

потенційні протекторні властивості ЕТС у поєднанні з вітаміном Е за умов інтоксикації Cr(VI).

Для досягнення поставленої мети було сплановано та проведено 2 серії експериментальних досліджень. У першій серії досліджень було сформовано 7 груп лабораторних щурів-самців лінії *Wistar* (130–140 г) з розрахунку по 5 тварин на кожну групу: I – контроль; II – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину впродовж 14 діб; III, IV – тварини, яким внутрішньоочеревинно вводили 150 мкл розчину  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 і 14 діб відповідно; V – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла протягом 14 діб; VI, VII – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб, після чого проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію 150 мкл розчину  $K_2Cr_2O_7$  (2,5 мг Cr(VI)/кг) протягом 7 і 14 діб відповідно.

Під час другої серії досліджень було сформовано 8 груп лабораторних щурів-самців лінії *Wistar* (130–140 г) з розрахунку по 5 тварин на кожну групу: I – контроль; II – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину; III, IV – тварини, яким внутрішньоочеревинно вводили 150 мкл розчину  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 і 14 діб відповідно; V/VI – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг) / вітаміну Е (20 мг/кг) та ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб; VII, VIII – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг) та ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб, після чого проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію 150 мкл розчину  $K_2Cr_2O_7$  (2,5 мг Cr(VI)/кг) протягом 7 і 14 діб відповідно.

Щоденні одноразові введення розчину  $K_2Cr_2O_7$  (розведення в 0,9% NaCl) протягом 7- та 14-добового періодів зумовлювали виникнення Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу у лабораторних щурів. Для підтвердження стану оксидативного стресу проводили вимірювання показників інтенсивності процесів окисної модифікації ліпідів та протеїнів у крові та тканинах тварин.

Проводили дослідження особливостей впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на процеси окисної модифікації ліпідів і протеїнів, стан системи

антиоксидантного захисту, окремі ланки ліпідного та протеїнового обміну, вміст загального Хрому та гематологічні параметри в організмі лабораторних щурів за умов  $K_2Cr_2O_7$ -індукованої інтоксикації.

У результаті проведених досліджень встановлено, що інтоксикація  $K_2Cr_2O_7$  спричиняла підвищення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та протеїнів у крові та досліджуваних тканинах щурів (печінка, нирки), особливо після періоду тривалішої інтоксикації. Відповідні зміни свідчать про накопичення вільних радикалів та стимуляцію прооксидантних процесів у відповідь на Cr(VI)-індукований оксидативний стрес.

Встановлено, що 7- та 14-добова інтоксикацію Cr(VI) порушує баланс у системі АОЗ шляхом гіперактивації супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ) в еритроцитах щурів. Також, спостерігалася компенсаторна стимуляція цих ензимів у тканині нирок за умов 7-ми добової інтоксикації Cr(VI) з наступним виснаженням їхньої активності в обох досліджуваних тканинах після тривалішого періоду токсичності. Таким чином, система АОЗ першочергово активувалася у відповідь на Cr(VI)-індуковану генерацію вільних радикалів у крові та тканинах, проте триваліший період інтоксикації призводив до виснаження активності ензимів системи АОЗ у тканинах тварин. Відповідний ефект пояснюється тим, що Cr(VI) здатний безпосередньо блокувати активний центр ензимів АОЗ.

З'ясовано, що глутатіонова ланка АОЗ компенсаторно активувалася у еритроцитах тварин за умов 7-ми добової інтоксикації Cr(VI), проте 14-ти добова токсичність супроводжувалася виснаженням пулу відновленого глутатіону (ВГ) та глутатіонпероксидази (ГП). Концентрація ВГ знижувалася, а активність глутатіонредуктази (ГР) пригнічувалася за впливу Cr(VI) на тлі переважної гіперактивації ГП в нирках та печінці тварин.

Дослідження властивостей ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е свідчать про стабілізуючий вплив цих сполук у порушенні системи АОЗ спричинених  $K_2Cr_2O_7$ -індукованим оксидативним стресом.

Вперше встановлено, що введення ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е спричиняло зниження інтенсивності накопичення гідропероксидів ліпідів (ГПЛ),

ТБК-активних продуктів та карбонільних груп протеїнів (КГП) у тканині печінки та нирок щурів за умов 14-ти добової інтоксикації Cr(VI). Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС сприяв послабленню інтенсивності процесів Cr(VI)-індукованого окиснення протеїнів за умов тривалішої інтоксикації.

Ефект ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е знижував відсоток гіперактивації СОД еритроцитів щурів за умов 14-ти добової токсичності. Вплив ЕТС спричиняв інгібуючий вплив на гіперактивацію КАТ в еритроцитах за обох періодів інтоксикації. У тканині нирок тварин дія ЕТС сприяла зниженню гіперактивації СОД за 7-ми добового впливу Cr(VI).

Попередній вплив ЕТС окремо та разом з вітаміном Е протидіяв Cr(VI)-індукованій інактивації глутатіонової ланки АОЗ за рахунок підвищення та запобігання виснаженню пулу ВГ в еритроцитах та досліджуваних тканинах. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС проявляв стабілізуючу дію на ГП активність в еритроцитах за обох періодів інтоксикації, ГП та ГР активність у нирках за 7-ми та 14-ти добової дії Cr(VI) відповідно.

З'ясовано, що токсичний ефект  $K_2Cr_2O_7$  спричиняв порушення співвідношення класів ліпідів у крові щурів. Зокрема, зафіксовано підвищення вмісту загальних ліпідів, холестеролу, моно-, ди-, триацилгліцеролів та зниження рівня фосфоліпідів, неестерифікованого холестеролу у плазмі крові тварин за обох періодів інтоксикації. Більш тривале введення  $K_2Cr_2O_7$  супроводжувалося зростанням вмісту неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) у крові щурів.

Застосування ЕТС з профілактичною метою спричиняло стабілізуючий вплив на вміст загальних ліпідів та холестеролу в крові за умов 14-ти добової дії Cr(VI).

Поєднана дія вітаміну Е та ЕТС попереджувала зниження вмісту фосфоліпідів та підвищення концентрації НЕЖК у плазмі крові тварин за 14-ти добового токсичного впливу Cr(VI). При цьому, вітамін Е разом з ЕТС викликав підвищення вмісту фосфоліпідів та зниження рівня НЕЖК у плазмі крові щурів.

З'ясовано, що токсичний ефект  $K_2Cr_2O_7$  спричиняв дисбаланс показників метаболізму протеїнів. Зокрема, зафіксовано підвищення аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ) та лужної фосфатази (ЛФ), зростання

концентрації кінцевих продуктів розпаду амінокислот (креатинін, сечовина) та вичерпання запасів загального протеїну у плазмі крові за обох періодів інтоксикації Cr(VI).

Вперше встановлено, що попередній вплив ЕТС запобігав Cr(VI)-індукованій гіперактивації АлАТ, ЛФ та сприяв менш значному підвищенню концентрації сечовини плазми крові за умов 7-ми добової дії Cr(VI). Антиоксидантний вплив ЕТС сприяв інгібуванню процесів підвищення рівня креатиніну та сечовини у плазмі крові щурів після 14-ти добового впливу Cr(VI).

Поєднана дія ЕТС та вітаміну Е забезпечувала нормалізуючий вплив на активність амінотрансфераз, ЛФ крові за обох періодів введення Cr(VI) та вмісту креатиніну і сечовини за 14-ти добового його застосування.

**Ключові слова:** сульфуровмісні сполуки, етилтіосульфанілат (естер тіосульфокислоти), полімер, Хром шестивалентний, вітамін Е, оксидативний стрес, протеїновий обмін, ліпідний обмін, щури, антиоксидантна система, біохімічні параметри, креатинін, протеїни, нирки, гепатотоксичність.

## SUMMARY

### ***Kotyk B. I. Biochemical features of the influence of ethylthiosulfanylate and vitamin E on metabolic processes in rats against the background of Cr(VI) action.***

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy 091 “Biology and biochemistry” (09 – Biology). – Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2024.

The dissertation is devoted to the study of the effect of newly synthesized ethylthiosulfanylate (ETS) and vitamin E on the hematological profile, the state of the antioxidant defense system, lipid and protein metabolism in the blood and tissues of rats under conditions of Cr(VI)-induced oxidative stress

Hexavalent Chromium (Cr(VI)) is a representative of a number of heavy metals. It is recognized as toxic and carcinogenic compound.

In recent decades, the intensity of environmental pollution with Cr(VI) compounds has elevated significantly due to increased activity of anthropogenic activities and the industrial sector. In the USA alone, 900–970 tons of Cr(VI) are released into the air annually, mainly due to industrial burning of oil and coal, drilling of oil wells, production of pigments and fertilizers, tanning of leather and application of galvanic coatings. Accumulation of Cr(VI) compounds in water, air and soil creates a risk of intoxication of living organisms and humans. A high frequency of poisoning by Cr(VI) compounds is observed among workers in industries that come into contact with chromic acid, process chromite ore, manufacture pigments and paints, and weld steel. Inhaling Cr(VI) compounds increases the risk of lung cancer, and drinking water with heavy metal can lead to liver cancer. The negative impact of Cr(VI) leads to cytotoxicity, mutagenesis, carcinogenesis and damage to a number of organs, such as the liver, kidneys, lungs, skin, spleen, heart, and brain.

One of the main mechanisms of Cr(VI) toxicity is oxidative stress, which causes the accumulation of reactive oxygen species (ROS), oxidative modification of proteins, lipids, nucleic acids, disrupts the functioning of the antioxidant defense system (AOS) and metabolic processes in cells. With this in mind, the search for compounds capable of reducing the negative effects of oxidative stress is an important direction in countering and preventing the toxic effects of Cr(VI). In recent years, research into the properties of antioxidant compounds that prevent Cr(VI)-induced imbalance of the AOS has been actively



conducted. In particular, natural organosulfur bioactive compounds (BAS) obtained from plants demonstrate positive properties and reduce the intensity of oxidative stress caused by the action of Cr(VI). In turn, numerous studies describe the side effects and toxicity of natural organosulfur BAS depending on the dose and duration of exposure. Also, the molecules of these compounds are unstable, quickly decompose and are metabolized to secondary products, which in turn can be the reason for a decrease in the effectiveness of their use. In this regard, the urgent task is to search for similar more stable compounds that are safe for the body, easily absorbed, available and cheap to produce and at the same time effectively prevent Cr(VI)-induced oxidative stress.

Ethylthiosulfanylate (ETS) is a representative of the class of thiosulfonate compounds (esters of thiosulfoacids) and a synthetic analogue of natural organosulfur BARs of plant origin. It is known that the molecular structure of thiosulfonates is more stable compared to their natural analogues. Studies of the properties of ETS have shown that the analogue compound is non-toxic, well absorbed by the body, characterized by they are a number of positive properties in relation to metabolic processes in the body of animals. It is also important that ETS exerts an antioxidant effect by reducing the level of free radicals, accumulating a pool of non-enzymatic antioxidants and activating enzymes of the AOS. However, there are no data on the effect of ETS on the AOS and metabolic processes in the body under the conditions of heavy metals intoxication and Cr(VI) in particular. Therefore, the study of the biological properties of ETS will make it possible to evaluate the effectiveness of the this organosulfur compound as a potential protector under the conditions of Cr(VI) intoxication. It is also known that the combined effect of antioxidants and vitamins contributes to more effective compensation of oxidative stress and metabolic disorders caused by the toxicity of heavy metals. In view of this, it is also important to investigate the potential protective properties of ETS in combination with vitamin E under conditions of Cr(VI) intoxication.

To achieve the goal, 2 series of experimental studies were planned and conducted. In the first series of studies, 7 groups of male *Wistar* laboratory rats (130–140 g) were formed with 5 animals per group: I – control; II – animals injected with 1000  $\mu$ l of oil solution; III, IV – animals injected with 150  $\mu$ l of  $K_2Cr_2O_7$  solution at a dose of 2.5 mg Cr(VI)/kg body

weight for 7 and 14 days, respectively; V – animals injected with 1000  $\mu\text{l}$  of ETS oil solution at a dose of 100 mg/kg of body weight for 14 days; VI, VII – animals injected with 1000  $\mu\text{l}$  of ETS oil solution (100 mg/kg) for 14 days, after which 150  $\mu\text{l}$  of  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  solution (2.5 mg Cr(VI)/kg) were administrated for 7 and 14 days, respectively.

During the second series of studies, 8 groups of male *Wistar* laboratory rats (130–140 g) were formed with 5 animals per group: I – control; II – animals injected with 1000  $\mu\text{l}$  of oil solution; III, IV – animals injected with 150  $\mu\text{l}$  of  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  solution at a dose of 2.5 mg Cr(VI)/kg body weight for 7 and 14 days, respectively; V – animals injected with 1000  $\mu\text{l}$  of an oily solution of vitamin E (20 mg/kg) for 14 days; VI – animals injected with 1000  $\mu\text{l}$  of an oily solution of vitamin E (20 mg/kg) and ETS (100 mg/kg) for 14 days; VII, VIII – animals administrated with 1000  $\mu\text{l}$  of an oily solution of vitamin E (20 mg/kg) and ETS (100 mg/kg) for 14 days, after which 150  $\mu\text{l}$  of  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  solution (2.5 mg Cr(VI)/kg) were injected for 7 and 14 days, respectively.

Daily single injections of  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  solution (diluted in 0.9% NaCl) during 7- and 14-day periods caused Cr(VI)-induced oxidative stress in laboratory rats. To confirm the state of oxidative stress, we measured the intensity of the oxidative modification processes of lipids and proteins in the blood and tissues of animals.

We conducted a study of the specifics of the effect of ETS separately and in combination with vitamin E on the processes of oxidative modification of lipids and proteins, the state of the antioxidant defense system, individual pathways of lipid and protein metabolism, total Chromium content and hematological parameters in the body of laboratory rats under conditions of  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -induced intoxication.

As a result of the conducted studies, it was established that  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  intoxication caused an increase in the concentration of lipid peroxidation (LP) products and protein peroxidation products in the blood and tissues of rats (liver, kidneys), especially after a period of longer intoxication. These changes indicate the accumulation of free radicals and the stimulation of pro-oxidant processes in response to Cr(VI)-induced oxidative stress.

It was established that the 7 and 14 day period of Cr(VI) intoxication disrupts the balance in the AOS through hyperactivation of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in rat erythrocytes. Compensatory stimulation of these enzymes was also observed

in the kidney tissue under the conditions of 7-day Cr(VI) intoxication, followed by depletion of their activity in both investigated tissues after a longer period of toxicity. Thus, the AOS was primarily activated in response to Cr(VI)-induced generation of free radicals in the blood and tissues. However, a longer period of intoxication led to depletion of the AOS enzymes activity in tissues of animals. This effect is explained by the fact that Cr(VI) is able to directly block the active center of AOS enzymes.

It was found that the glutathione AOS was compensatory activated in the erythrocytes of animals under conditions of 7-day Cr(VI) intoxication. However, 14-day toxicity was accompanied by depletion of the pool of reduced glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GP). The concentration of GSH decreased, and the activity of glutathione reductase (GR) was suppressed under the influence of Cr(VI) against the background of predominant hyperactivation of GP in the kidneys and liver of animals.

Studies of the properties of ETS about and in combination with vitamin E testify the stabilizing effect of these compounds in relation to disorders in the AOS caused by  $K_2Cr_2O_7$ -induced oxidative stress.

It was established for the first time that the introduction of ETS alone and in combination with vitamin E caused a decrease in the intensity of accumulation of lipid hydroperoxides (LHP), TBA-reactive substances and carbonyl groups of proteins (CP) in the liver and kidney tissue of rats under conditions of 14-day Cr(VI). The combined effect of vitamin E and ETS contributed to the weakening of the intensity of the processes of Cr(VI)-induced protein oxidation under conditions of longer intoxication.

The effect of ETS alone and in combination with vitamin E reduced the percentage of SOD hyperactivation in erythrocytes of rats under conditions of 14-day toxicity. In turn, the effect of ETS weakened the percentage of hyperactivation of CAT in erythrocytes during both periods of intoxication. In the kidney tissue of animals, the action of ETS also contributed to the weakening of SOD hyperactivation after 7-day exposure to Cr(VI).

Previous exposure to ETS, alone and in combination with vitamin E, counteracted Cr(VI)-induced inactivation of the glutathione AOS due to accumulation and prevention of Cr(VI)-induced depletion of the GSH pool in erythrocytes and in the studied tissues. The combined effect of vitamin E and ETS partially stabilized GP activity of erythrocytes during

both periods of intoxication, GP and GR activity of kidneys after 7 and 14 days of Cr(VI) exposure, respectively.

It was found that the toxic effect of  $K_2Cr_2O_7$  caused dyslipidemia by disrupting the ratio of lipid classes in the blood of rats. After both periods of intoxication, there was an accumulation of total lipids, cholesterol, mono-, di-, triglycerides and a decrease in the percentage of phospholipids, non-esterified cholesterol in the blood plasma of animals. Longer administration of  $K_2Cr_2O_7$  was also accompanied by the accumulation of the fraction of non-esterified fatty acids (NFA) in the blood of rats.

Previous exposure to ETS, in turn, contributed to the partial stabilization of blood total lipids and cholesterol under conditions of 14-day exposure to Cr(VI).

The combined effect of vitamin E and ETS partially compensated for the 14-day Cr(VI)-induced imbalance of lipid metabolism by preventing a decrease in the content of phospholipids and an increase in the concentration of NFA in blood plasma of animals. Vitamin E in combination with ETS contributed also to the accumulation of the content of the phospholipid fraction and to the reduction of the level of NFA in the blood plasma of rats.

It was found that the toxic effect of  $K_2Cr_2O_7$  caused an imbalance of protein metabolism through hyperactivation of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP), accumulation of end products of amino acid breakdown (creatinine, urea) and depletion of total protein content in blood plasma for both periods of Cr(VI) intoxication.

For the first time, it was established that prior exposure to ETS prevented Cr(VI)-induced hyperactivation of ALT, ALP and contributed to a decrease in the percentage accumulation of blood plasma urea under conditions of 7-day Cr(VI) exposure. Antioxidant effect of ETS also contributed to the inhibition of creatinine and urea accumulation in blood plasma of rats after 14-day exposure to Cr(VI).

The combined effect of ETS and vitamin E contributed to a more effective stabilization of aminotransferases and ALP activity in blood of rats during both periods of Cr(VI) administration. The intensity of 14-day Cr(VI)-induced accumulation of creatinine

and urea in blood of animals was reduced more effectively due to the combined effect of vitamin E and ETS.

**Key words:** sulfur-containing compounds, ethylthiosulfanylate (ester of thiosulfoacid), polymer, hexavalent Chromium, vitamin E, oxidative stress, protein metabolism, lipid metabolism, rats, antioxidant system, biochemical parameters, creatinine, proteins, kidneys, hepatotoxicity.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

### Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Котик, Б., Іскра, Р., Сушко, О., Слівінська, О., Климець, Г., Бучко, О., Пилипець, А., & Приймич В. (2019). Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. *Біологія тварин*, 21(4): 38–45. doi: 10.15407/animbiol21.04.038
2. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Slivinska, O. M., Liubas, N. M., Pylypets, A. Z., Lubenets, V. I., & Pryimych, V. I. (2020). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 92(5): 78–86. doi: 10.15407/ubj92.05.078
3. Kotyk, B., & Iskra, R. (2021). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of glutathione antioxidant system and oxidative stress markers content in rat kidneys. *Current Applied Science and Technology*, 21(4): 761–773. doi: 10.14456/cast.2021.61
4. Котик, Б., & Іскра, Р. (2021). Ліпідний склад плазми крові щурів за дії етилтіосульфанілату і хром (VI)-індукованої токсичності. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 85: 18–25. doi: 10.30970/vlubs.2021.85.02
5. Kotyk, B., Iskra, R., & Lubunets, V. (2022). Antioxidant effect of the complex action of vitamin E and ethylthiosulfanylate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2): 1405–1420. doi: 10.33263/BRIAC122.14051420
6. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., & Merlavsky, V. M. (2023). Features of the influence of S-ethyl-4-aminobenzene thiosulfonate on some biochemical parameters of rat blood under the condition of Cr(VI) intoxication. *Studia Biologica*, 17(1): 49–60. doi:10.30970/sbi.1701.701
7. Kotyk, B. I. (2023). Effect of ethylthiosulfanylate in combination with vitamin E on certain biochemical blood parameters and hematological indicators of rats under the influence of Cr(VI). *The Animal Biology*, 25(1): 31–37. doi: 10.15407/animbiol25.01.031

### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

1. Kotyk B., Iskra R. (2018, June 10–14). Toxic Effect of Different Concentrations of Potassium Bichromate on Biochemical Parameters of Blood of Rats [Abstract]. Central and Eastern European Conference on Health and Environment (CEECH), Krakow, Poland, 17.
2. Котик Б.І. (2018, 6–7 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфонілату на показники протеїнового обміну в крові щурів за дії хрому(VI) [Тези]. XVII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук Третевича Володимира Івановича, Львів, Україна, 118.
3. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2019, 30 вересня – 4 жовтня). Вплив етилтіосульфонілату та Хрому(VI) на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в крові щурів [Тези]. XII Український біохімічний конгрес, Тернопіль, Україна, 99–100.
4. Котик Б.І., Іскра Р.Я., Бучко О.М., Пилипець А.З., Слівінська О.М. (2019, 27–30 травня). Гематологічні показники, супероксиддисмутаза і каталазна активність в еритроцитах щурів за впливу хрому (VI) та етилтіосульфонілату [Тези]. XX з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, Київ, Україна, 172–173.
5. Котик Б.І., Золотоцька Л.Б., Маховська К.С. (2019, 5–6 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфонілату на показники оксидативного стресу в плазмі крові щурів за дії Хрому(VI) [Тези]. XVIII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скорохода Володимира Йосиповича, Львів, Україна, 127.
6. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2020, 3–4 грудня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфонілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. XIX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня

народження доктора біологічних наук, професора Яновича Вадима Георгійовича, Львів, Україна, 69.

7. Котик Б., Іскра Р. (2020, 1–2 жовтня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфанілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в нирках щурів за дії Cr(VI) [Тези]. V міжнародна наукова конференція актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології, Дніпро, Україна, 135–137.
8. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2021, 6–7 травня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи», Дніпро, Україна, 84-85.
9. Kotyk B.I., Iskra R.Ya., Svarchevska O.Z. (2021, May 26–27). Biological features of ethylthiosulfanylate influence on the activity of antioxidant enzymes in rat kidneys under the action of Cr(VI) [Abstract]. «XV All-Ukrainian Conference of Young Scientists with International Participation», dedicated to the 30th anniversary of Ukraine's Independence, Kyiv, Ukraine, 14.
10. Kotyk B., Iskra R. (2021, August 2–6). Effects of chromium(VI) and ethylthiosulfanylate on the glutathione reductase activity and reduced glutathione content in rat liver [Abstract]. International Conference of Trace Elements and Minerals (ICTEM), Aachen, Germany, 59.
11. Kotyk B., Liubas N., Iskra R. (2021, September 29–30). Effect of ethylthiosulfanylate on hematological indicators in blood of rats under the toxic effect of Chromium(VI) [Abstract]. «The 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum «Agrobioperspectives», Lviv, Ukraine, 60.
12. Котик Б., Іскра Р., Любас Н. (2022, 19 травня). Показники фосфоліпідного складу плазми крові щурів за впливу етилтіосульфанілату на фоні Хром(VI)-індукованої токсичності [Тези]. XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора



біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, Львів, Україна, 34.

13. Котик Б., Іскра Р. (2022, 6–7 жовтня). Комплексний вплив вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст деяких показників протеїнового обміну у крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI) [Тези]. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і Поступ Біології», присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера, Львів, Україна, 124–125.
14. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 2–3 березня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на показники ліпідного обміну крові щурів за токсичної дії Cr(VI) [Тези]. VIII Міжнародний молодіжний конгрес «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування», Львів, Україна, 146.
15. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 27–29 вересня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст окремих фосфоліпідних фракцій крові щурів за токсичної дії Cr(VI). [Тези]. II Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція «Відкрита наука України: Візійний дискурс в умовах воєнного стану», Ужгород, Україна, 40–42.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

1. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets V. I. (2022) Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 94(6): 18–29. doi:10.15407/ubj94.06.018
2. Любас, Н., Котик, Б., Іскра, Р. (2023, 18 травня). Глутатионова ланка антиоксидантного захисту крові щурів за впливу естерів тіосульфонатів. [Тези] «XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених», Львів, Україна, 63.
3. Іскра, Р., Любас, Н., Котик, Б., Бедріло, А., Терлецька, М. (2023, 25–26 травня) Вплив тіосульфонатів на систему антиоксидантного захисту у нирках і печінці тварин. [Тези]. Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», Львів, Україна, 31–32.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	21
ОСНОВНА ЧАСТИНА .....	23
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	31
1.1. Cr(VI) у навколишньому середовищі.....	31
1.2. Порушення метаболічних процесів за впливу Cr(VI) .....	33
1.2.1. Механізми токсичного впливу Cr(VI) в організмі.....	33
1.2.2. Стан про/антиоксидантної системи за дії Cr(VI).....	36
1.2.3. Вплив Cr(VI) на гематологічний профіль.....	42
1.2.4. Показники ліпідного обміну в крові тварин за дії Cr(VI).....	45
1.2.5. Біохімічні особливості протеїнового обміну за дії Cr(VI).....	48
1.3. Біохімічні особливості дії естерів тіосульфокислот.....	50
1.4. Вітамін Е та його вплив на метаболічні процеси в організмі.....	54
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	57
2.1. Схема досліджень.....	57
2.2. Досліджувані сполуки .....	61
2.3. Приготування дослідного матеріалу .....	63
2.4. Методи досліджень .....	64
2.4.1. Визначення загального вмісту протеїну за методом Лоурі.....	64
2.4.2. Визначення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів .....	64
2.4.3. Визначення концентрації ТБК-активних продуктів.....	65
2.4.4. Визначення концентрації карбонільних груп протеїнів .....	66
2.4.5. Визначення супероксиддисмутазної активності (СОД: К.Ф. 1.15.1.1.) .....	67
2.4.6. Визначення каталазної активності (КАТ: К.Ф. 1.11.1.6.) .....	68
2.4.7. Визначення глутатіонпероксидазної активності (ГП: К.Ф. 1.11.1.9.) .....	69
2.4.8. Визначення глутатіонредуктазної активності (ГР: К.Ф. 1.6.4.2.) .....	70

2.4.9. Визначення концентрації відновленого глутатіону .....	71
2.4.10. Екстрагування ліпідів за методом Фолча .....	71
2.4.11. Визначення концентрації загальних ліпідів гравіметричним методом.....	72
2.4.12. Визначення вмісту окремих класів ліпідів методом тонкошарової хроматографії.....	72
2.4.13. Визначення вмісту окремих класів фосфоліпідів методом тонкошарової хроматографії.....	73
2.4.14. Підрахунок кількості еритроцитів .....	73
2.4.15. Підрахунок кількості лейкоцитів .....	74
2.4.16. Визначення концентрації гемоглобіну у крові .....	75
2.4.17. Визначення амінотрансферазної активності у плазмі крові (аланінамінотрансфераза – АЛАТ: К.Ф. 2.6.1.2.; аспартатамінотрансфераза – АсАТ: К.Ф. 2.6.1.1.).....	75
2.4.18. Визначення вмісту креатиніну, сечовини та холестеролу у плазмі крові.	76
2.4.19. Визначення лужно фосфатазної активності у плазмі крові (ЛФ: К.Ф. 3.1.3.1.).....	76
2.4.20. Визначення вмісту Хрому в печінці щурів .....	76
2.5. Статистична обробка даних .....	77
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>78</b>
3.1. Вплив етилтіосульфанілату на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI).....	78
3.1.1. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на стан про/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності .....	78
3.1.2. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на окремі показники ліпідного метаболізму у крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності ...	91

3.1.3. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на гематологічні параметри крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності.....	97
3.1.4. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності .....	99
3.2. Вплив етилтіосульфанілату в поєднанні з вітаміном Е на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI).....	104
3.2.1. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг в поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на стан про/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності.....	104
3.2.2. Вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на окремі показники ліпідного метаболізму у крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності .....	118
3.2.3. Вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на гематологічні параметри крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності .....	123
3.2.4. Вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності .....	125
3.3. Вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на вміст Хрому у тканині печінки щурів за умов інтоксикації Cr(VI).....	130
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	132
ВИСНОВКИ.....	163
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	165

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОЗ – антиоксидантний захист;  
АФН – активні форми нітрогену;  
АФН – активні форми нітрогену;  
АФО – активні форми кисню;  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;  
АлАТ – аланінамінотрансфераза;  
БАР – біологічно активні речовини;  
ВГ – відновлений глутатіон;  
ГП – глутатіонпероксидаза;  
ГПЛ – гідропероксиди ліпідів;  
ГР – глутатіонредуктаза;  
ДАГК – диацилгліцерол кіназа;  
ДТНБК – 5,5`-дитіобіс-2-нітробензойна кислота;  
ЕТС – етилтіосульфанілат;  
КАТ – каталаза;  
КГП – карбонільні групи протеїнів;  
ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності;  
ЛФ – лужна фосфатаза;  
МАГЛ – моноацилгліцеролліпаза;  
МДА – малоновий діальдегід;  
НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид;  
НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат;  
НЕЖК – неестерифіковані жирні кислоти;  
НСТ – нітросиній тетразолій;  
ОГ – дисульфід глутатіон;  
ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти;  
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів;  
СЕР – стрес ендоплазматичного ретикулуму;

СЖК – синтаза жирних кислот;  
СОД – супероксиддисмутаза;  
ТБК – тіобарбітурова кислота;  
ТХО – трихлороцтова кислота;  
ФК – фосфатидна кислота;  
АМРК – АМФ-активована протеїнкіназа;  
АРР – протеїн-попередник амілоїду;  
ARE – антиоксидант-респонсивні елементи;  
A $\beta$  – амілоїд  $\beta$ ;  
Вах – Bcl-2-асоційованою протеїн X;  
Bcl-2 – протеїну В-клітинної лімфоми 2;  
Cr(VI) – Хром шестивалентний;  
Dyr1 – динамін-залежний протеїн 1;  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – пероксид водню;  
H<sub>2</sub>S – гідроген сульфід;  
IL-1 $\beta$  – інтерлейкін-1  $\beta$ ;  
IL-6 – інтерлейкін-6;  
Keap1 – kelch-подібного ECH-асоційований протеїну 1;  
mTOR – протеїн мішень рапаміцину;  
NF-kB – ядерний фактор каппа бета;  
Nrf2 – ядерний еритроїдний фактора 2;  
O<sub>2</sub><sup>-</sup> – супероксид аніон;  
OH $\cdot$  – гідроксильний радикал;  
PGC-1 – коактиватора-1 рецептора- $\gamma$ ;  
PI3K – фосфоінозитид 3-кіназа;  
PKB – протеїн кіназа B;  
PPAR $\alpha/\gamma$  – рецептор- $\alpha/\gamma$  активований проліфератором пероксисом;  
-SH – тіольна група;  
SREBP-1 – стерол-регулюючий елемент-зв'язуючий протеїн-1;  
TNF- $\alpha$  – фактор некрозу пухлини- $\alpha$ ;

# ОСНОВНА ЧАСТИНА

## ВСТУП

### Актуальність теми

На сьогоднішній день інтенсифікація промислових та антропогенних видів діяльності призводить до масштабного забруднення навколишнього середовища сполуками важких металів, що у свою чергу є глобальною екологічною проблемою. Сотні мільйони людей по всьому світу страждають від наслідків токсичного впливу важких металів в результаті накопичення відповідних сполук у повітрі, ґрунті, воді, рослинах та організмі тварин [27; 222]. Гострі та хронічні дози важких металів спричиняють органні та системні порушення, такі як дисфункція шлунково-кишкового тракту та нирок, розлади нервової системи, ураження шкіри, пошкодження судин, дисфункція імунної системи, вроджені дефекти та рак [130; 224].

Хром шестивалентний (Cr(VI)) є поширеним представником важких металів та класифікується як глобальний забруднювач навколишнього середовища, який підвищує ризик кількох типів раку та все частіше визнається нейротоксикантом [130]. Агентство з охорони навколишнього середовища США (USEPA) включило Cr(VI) до пріоритетних забруднюючих речовин у зв'язку з стійкими токсичними властивостями та переважно незворотним характером негативного впливу [101; 284]. Оксидативний стрес є одним із основних механізмів Cr(VI)-індукованої токсичності, який характеризується дисбалансом між процесами продукування активних форм Оксигену (АФО) та Нітрогену (АФН) та здатністю системи антиоксидантного захисту (АОЗ) нейтралізувати відповідні вільні радикали [215; 268]. У процесі внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) до нетоксичної форми Cr(III) генерується велика кількість вільних радикалів та проміжних реакційноздатних продуктів, які пошкоджують та окиснюють ліпіди, протеїни, нуклеїнові кислоти, інші макромолекули, а також порушують механізми експресії та метилювання генів. Таким чином, Cr(VI)-індукований оксидативний стрес призводить до активації цитотоксичності, клітинного мутагенезу, канцерогенезу, апоптозу [62],

тератогенності, кластогенності, хромосомних ушкоджень, дисбалансу ліпідного обміну, а також порушення процесів транскрипції, трансляції та експресії протеїнів [282]. Поширеними наслідками інтоксикації Cr(VI) є онкологічні захворювання, гепато-, нефро-, дерматотоксичність, шлунково-кишкові розлади, протеїнурію, гострий тубулярний некроз [46; 91]. В залежності від виду організму, статі та шляхів отруєння, LD50 для Cr(VI) становить 20-250 мг/кг маси тіла [240; 201]. Зокрема, внутрішньоочеревинна та пероральна LD50 Cr(VI) для білих лабораторних щурів становить 28 та 105 мг/кг маси тіла відповідно [115; 112].

Система АОЗ клітини відіграє ключову роль у протидії негативним наслідкам Cr(VI)-індукованого окисного стресу в біологічних системах [21; 230]. Проте, тривалий Cr(VI)-індукований окисдатовний стрес призводить до виснаження ресурсів системи АОЗ, посилення прооксидантних процесів і як наслідок окисного пошкодження клітин, тканин та органів [176; 294].

Вважається, що підтримка антиоксидантного статусу є найважливішим аспектом профілактики та корекції негативних ефектів Cr(VI)-індукованої токсичності [25; 101; 292]. Саме тому, в останні роки, актуальним завданням науковців є пошук дієвих антиоксидантних сполук, які здатні запобігати Cr(VI)-індукованому виснаженню системи АОЗ. Біологічно активні речовини, яким притаманні антиоксидантні, детоксикуючі та цитопротекторні властивості, є хорошими кандидатами для профілактики та корекції негативних ефектів Cr(VI)-індукованого окисного стресу [4; 36; 183; 210; 231].

Природні сульфуроорганічні біологічно активні сполуки, екстраговані переважно з рослинних організмів, зарекомендували себе як ефективні протектори по відношенню до окисдатовного стресу та токсичної дії Cr(VI) зокрема [65; 172; 292]. Проте, деякі дослідження вказують на те, що відповідні сполуки характеризуються низькою молекулярною стабільністю, здатністю проявляти побічні та токсичні ефекти у певних дозах та за певних періодів впливу [13; 56; 169; 290]. Саме тому, актуальним завданням є пошук стабільних аналогів, які максимально ефективно протидіють інтоксикації Cr(VI) та водночас легко засвоюються організмом без ризиків та побічних ефектів.



Етилтіосульфанілат (ЕТС) – це сульфуроорганічна синтетична сполука, яка відноситься до класу речовин тіосульфонатів. Структура молекули ЕТС відображається формулою  $RSO_2SR'$ , де R – залишок аніліну, а R' – алкільний залишок ( $-C_2H_5$ ) [167]. Сполуки класу тіосульфонатів є синтетичними аналогами природних сульфуроорганічних біологічно активних сполук екстрагованих з часнику, цибулі, броколі, цвітної капусти та морського їжака. На відміну від природних аналогів тіосульфонати є більш стабільними, характеризуються низьким рівнем токсичності та широким спектром біологічної дії [169]. Зокрема, дослідження властивостей ЕТС у високій дозі (300 мг/кг) свідчать про те, що відповідна сполука є нетоксичною, легко засвоюється організмом та не спричиняє дисбалансу метаболізму ліпідів та протеїнів в організмі лабораторних тварин [167; 218]. Відомо, що тіосульфонати є високо реакційноздатними сполуками, які дезактивують вільні радикали шляхом розриву -S-S-зв'язку за рахунок перерозподілу електронної густини в тіосульфогрупі молекули [169] та розкладають гідропероксиди ліпідів до нерадикальних продуктів за участі сульфоефірної групи [17; 169]. Внаслідок біотрансформаційних процесів ЕТС можуть взаємодіяти з тіоловими групами амінокислот з наступним формуванням сульфуровмісних попередників відновленого глутатіону [162]. Літературні джерела свідчать про те, що тіосульфонати є донорами гідроген сульфід ( $H_2S$ ), який є ефективним неензиматичним антиоксидантом та задіяний у процесах відновлення окисленого глутатіону [28].

Проте, дуже мало відомо про ефективність тіосульфонатів у протидії оксидативному стресу індукованому токсичною дією важких металів та Cr(VI) зокрема.

Зважаючи на позитивні антиоксидантні властивості ЕТС, його економічну доступність та низьку токсичність, актуальним завданням залишається дослідження особливостей впливу ЕТС на метаболічні процеси в організмі за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу.

Вітамін Е вважається найефективнішим жиророзчинним неензиматичним антиоксидантом, який захищає клітинну мембрану від радикал-індукованого пероксидного окиснення. Вітамін Е ефективно протидіє Cr(VI)-індукованій

токсичності шляхом активації ензимів системи АОЗ, пригнічення процесів окисної модифікації ліпідів, зниження інтенсивності запалення, гепато- та нефротоксичності [25; 101; 244]. Також, вітамін Е застосовують у поєднанні з іншими антиоксидантами з метою більш ефективної профілактики та корекції стану Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [101; 183; 207].

Тому, враховуючи основні біохімічні особливості дії ЕТС та вітаміну Е, ми досліджували їхній вплив на метаболічні процеси в організмі тварин за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Отримані результати можуть бути використані для впровадження нових методів профілактики та корекції патологічних станів, викликаних токсичною дією Cr(VI).

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи – дослідити вплив новосинтезованого етилтіосульфанілату (ЕТС) та вітаміну Е на гематологічний профіль, стан системи антиоксидантного захисту, ліпідного і протеїнового обміну у крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу, а також розробити нові підходи для профілактики та корекції токсичних станів спричинених дією Cr(VI).

**Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання:**

1. Оцінити вплив ЕТС окремо та в поєднанні з вітаміном Е на стан системи антиоксидантного захисту у крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу.
2. Дослідити вміст продуктів окисної модифікації ліпідів та протеїнів у крові та тканинах щурів з Cr(VI)-індукованим оксидативним стресом за дії ЕТС як окремо, так і поєднано з вітаміном Е.
3. З'ясувати вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на окремі ланки метаболізму ліпідів у крові щурів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ .
4. З'ясувати вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на окремі ланки метаболізму протеїнів у крові щурів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ .
5. Проаналізувати окремі гематологічні параметри щурів з Cr(VI)-індукованою інтоксикацією за впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е.

6. Дослідити вміст загального Хрому у печінці щурів з Cr(VI)-індукованим оксидативним стресом за дії ЕТС як окремо, так і поєднано з вітаміном Е.

**Об'єкт дослідження:** метаболічні процеси в організмі щурів з Cr(VI)-індукованою інтоксикацією за впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е.

**Предмет дослідження:** окремі гематологічні параметри крові, процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів, активність ензимів антиоксидантного захисту, окремі ланки метаболізму ліпідів, протеїнів у крові та тканинах щурів з Cr(VI)-індукованим оксидативним стресом за впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е.

**Методи дослідження:** біохімічні (концентрація продуктів окисної модифікації ліпідів та протеїнів, активність ензимів антиоксидантного захисту та протеїнового обміну, вміст ВГ, гемоглобіну, протеїну, креатиніну, сечовини), хроматографічні (вміст загальних ліпідів та їх окремих класів), гематологічні (кількість еритроцитів та лейкоцитів), фізичні (атомно-абсорбційний аналіз) та статистичні.

#### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дослідження, які входять до дисертаційної роботи були проведені згідно планів науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН упродовж 2017–2023 років відповідно до тематики 35.00.02.04.Ф. ДР №0116U001413 «Вивчити фізіолого-біохімічні механізми дії біологічно активних речовин на метаболічні процеси в організмі тварин».

Дисертант був співвиконавцем відповідних завдань та досліджував біохімічні і метаболічні особливості впливу ЕТС та вітаміну Е на про/антиоксидантний статус, ліпідний та протеїновий обмін, гематологічні параметри крові за умов K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-індукованого оксидативного стресу.

## **Наукова новизна одержаних результатів**

З огляду на позитивну динаміку біохімічних маркерів гепато- та нефротоксичності у крові за умов введення ЕТС (100 мг/кг) та вітаміну Е (20 мг/кг), встановлено, що відповідні сполуки у досліджуваних дозах не проявляють токсичних ефектів та добре засвоюються організмом. Вперше з'ясовано, що вплив ЕТС окремо та в поєднанні з вітаміном Е характеризується вираженим протекторним ефектом по відношенню до токсичної дії  $K_2Cr_2O_7$ . Встановлено, що антиоксидантний ефект ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв зниженню інтенсивності процесів окисної модифікації ліпідів, протеїнів за умов інтоксикації Cr(VI) у плазмі крові та тканинах щурів. Вплив досліджуваних сполук стимулював антиоксидантні резерви у крові та тканинах щурів шляхом підвищення вмісту ВГ, стабілізації активності антиоксидантних ензимів за різних періодів інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ , а також сприяв зниженню рівня акумуляції Хрому у печінці тварин. Вперше з'ясовано, що антиоксидантний ефект досліджуваних сполук сприяв нормалізації ліпідного та протеїнового обміну у крові щурів з Cr(VI)-індукованим оксидативним стресом за рахунок зниження інтенсивності гіперліпідимії, стабілізації біохімічних маркерів ушкодження печінки (амінотрансферази, лужної фосфатази, загального протеїну) та нирок (креатиніну, сечовини). Виявлено стабілізацію гематологічного профілю інтоксикованих щурів за дії досліджуваних сполук, який проявляється у зниженні інтенсивності Cr(VI)-індукованої деградації еритроцитів та лейкоцитів крові лабораторних щурів.

## **Практичне значення одержаних результатів**

Отримані нами результати експериментальних досліджень, які вказують на протекторні властивості ЕТС та вітаміну Е у досліджуваних дозах за умов інтоксикації Cr(VI) можуть бути використані у розробці терапевтичних підходів для профілактики виникнення та корекції токсичних станів спричинених дією Cr(VI). Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальний процес на кафедрі біології та хімії факультету здоров'я людини та природничих наук Дрогобицького державного педагогічного університету ім. І. Франка, кафедри

технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Інституту хімії та хімічних технологій Національного університету «Львівська Політехніка», кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету.

### **Особистий внесок здобувача**

Автором особисто виконано пошук та аналіз наукової літератури за тематикою дисертаційної роботи, проведено дві серії експериментальних досліджень, проведено аналіз та статистичну обробку отриманих експериментальних даних, написано та оформлено дисертаційну роботу. У співпраці з науковим керівником, д.б.н., професором Р.Я. Іскрою сплановано робочу гіпотезу, схему досліджень, мету та завдання, обґрунтовано та підібрано методичні підходи, сформульовано висновки, які представлені у розділах дисертаційної роботи. Опубліковані у співавторстві наукові праці написані на основі фактичного експериментальних даних, отриманих дисертантом у процесі виконання досліджень.

### **Апробація результатів дисертаційної роботи**

Отримані експериментальні дані представлені у дисертації були апробовані на науково-практичній конференції для молодих учених “Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини” (6–7 грудня 2018 р., 5–6 грудня 2019 р., 3–4 грудня 2020 р., м. Львів); Central and Eastern European Conference on Health and Environment (June 10–14, 2018, Krakow); XII-му Українському біохімічному конгресі (30 вересня – 4 жовтня 2019 р., м. Тернопіль); XX-му з’їзді Українського фізіологічного товариства (27–30 травня 2019 р., м. Київ); V міжнародній науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології” (1–2 жовтня 2020 р., м. Дніпро); VI-й Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і студентів “Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи” (6–7 травня 2021 р., м. Дніпро); XV Всеукраїнській конференції молодих вчених ІМБГ з міжнародною участю (26–27 травня 2021 р., м. Київ); International Conference on

Teaching and Education Management (August 2–6, 2021, Aachen); The 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum “Agrobioperspectives” (September 29–30, 2021, Lviv); XX Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених (19 травня 2022 р., м. Львів); XVIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів “Молодь і Поступ Біології” (6–7 жовтня 2022 р., м. Львів); VIII Міжнародний молодіжний конгрес “Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування” (2–3 березня 2023 р., м. Львів); II Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція «Відкрита наука України: Візійний дискурс в умовах воєнного стану» (27–29 вересня 2023 р., м. Ужгород).

### **Публікації**

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 7 наукових статей (4 статті у виданнях, які індексуються у міжнародних наукометричних базах Scopus / Web of Science та 3 статті у фахових журналах категорії Б), 15 тез доповідей на вітчизняних, міжнародних та закордонних наукових конференціях, конгресах, форумах.

### **Структура та обсяг дисертаційної роботи**

Дисертацію викладено на 214 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 11 рисунками та 22 таблицями. До складу дисертації входять наступні розділи: “Анотація”, “Вступ”, “Огляд літератури”, “Матеріали та методи досліджень”, “Результати досліджень”, “Аналіз та узагальнення результатів досліджень”, “Висновки”, “Список використаної літератури”, “Додаток А”, “Додаток Б”. До списку літератури входить 325 джерело.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Cr(VI) у навколишньому середовищі

Хром (Cr) – це сріблясто-сірий блискучий метал, який характеризується широким діапазоном з одинадцяти ступенів окиснення від  $-IV$  до  $+VI$ . Найбільш поширеними та стійкими формами хрому є Cr(III) та Cr(VI) [230]. Cr(III) є важливим мікроелементом для людини та тварин, який широко розповсюджений у природі у вигляді сполук хрому [183]. Cr(III) – це кінцева стадія окиснення хрому та незамінний компонент в усіх біологічних системах, який характеризується високою термодинамічною стабільністю та здатністю до формування важливих координаційних сполук [103; 205]. Дефіцит Cr(III) в організмі пов'язаний з порушенням обміну глюкози, ліпідів та підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань [101; 152]. Сполуки Cr(III), які входять до складу ґрунтів, вступають у хімічні реакції за певних умов середовища (підвищені концентрації Мангану (Mn); високий рівень рН) та окиснюються до Cr(VI) [62]. Cr(VI) – це важкий метал, який характеризується потужними токсичними, канцерогенними, мутагенними та прооксидантними властивостями [183]. Cr(VI) є одним із восьми металів, які входять у топ пріоритетності сполук за класифікацією їх отруйності та викликає велике занепокоєння науковців у зв'язку з глобальним ризиком для здоров'я людини [62; 101]. Міжнародне агентство з дослідження раку (IARC) та Агенство з охорони навколишнього середовища (EPA) США класифікує сполуки Cr(VI) як канцерогени 1 групи (A) [51; 62]. Cr(VI) широко розповсюджений у природі, входить до складу гірських порід у вигляді хромовмісних сполук або присутній в іонній формі у воді. Проте, основними джерелами Cr(VI) є антропогенна діяльність та промисловість, які сприяють значному накопиченню Cr(VI)-вмісних сполук у навколишньому середовищі. Сполуки Cr(VI) активно використовуються у промислових цілях (процесі дублення шкіри, хромуванні, обробці деревини, виробництві текстилю, нержавіючої сталі, хроматів, ферохроматів, виготовленні вогнетривких матеріалів, нанесенні антикорозійних покриттів, виробництві пігментів для фарб та барвників) [205; 230]. Cr(VI) присутній у автомобільних вихлопах, випарах електронних сигарет,

тютюновому та кальянному димі. Відомо, що 66% діючих та законсервованих сховищ небезпечних відходів, які внесені до Списку національних пріоритетів США (NPL USA), містять токсичні сполуки Cr [205]. Саме Cr(VI), який активно застосовується у виробничих процесах є одними з найпоширеніших забруднювачів водних, наземних екосистем [73; 77; 84]. Cr(VI) зазвичай представлений у формі оксигеновмісних сполук – хроматів ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) та дихроматів ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) [103; 205].

В останні роки Cr(VI) привертає увагу дослідників в галузі охорони навколишнього середовища саме у зв'язку з підвищеним рівнем забруднення екосистем сполуками Cr у багатьох країнах світу. Згідно даних, опублікованих ВООЗ, концентрація Cr(VI) у підземних водах Каліфорнії, Сан-Паулу, Бразилії, Північної Італії та Бангладеша коливається від 130 до 3000 мкг/л, що значно перевищує загальнодопустимі норми та стандарти вмісту Cr у питній воді (50 мкг/л) [294; 254]. Зокрема, серед працівників гальванічного сектору промисловості Німеччини, які перебували під впливом сполук Cr більше 30 років, 97,1% персоналу страждали від раку легень та 95,4% мали злякисні новоутворення. Пероральне введення  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  у дозі 89 мг/кг протягом 14 днів призводило до 15%-ї смертності серед лабораторних щурів [294]. Професійний вплив Cr(VI) впливає на здоров'я мільйонів працівників у всьому світі, головним чином через дихальні шляхи, контакт зі шкірою та слизовими оболонками шлунково-кишкового тракту. Крім того, гострий та хронічний вплив Cr(VI) демонструє нейротоксичність, генотоксичність, імунотоксичність та канцерогенність [280; 302].

Негативний вплив Cr(VI) на організм людини пов'язаний з ушкодженням ряду органів, таких як, легені, печінка, нирки, шкіра [46]. Спричинений Cr(VI) алергічний дерматит та екзема виникають внаслідок прямого контакту зі шкіряними виробами та цементом, які містять надлишок відповідного важкого металу. Сполуки Cr(VI) здатні спричиняти онкологічні, гематологічні та шлунково-кишкові розлади, протеїнурію, гострий тубулярний некроз, особливо серед працівників промислового сектору (хромувальники та зварювальники). Близько 69,69% працівників галузі виробництва  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  та 56,22% працівників галузі хромування страждають від виразок шкіри та захворювань слизової оболонки носа [91].



## 1.2. Порушення метаболічних процесів за впливу Cr(VI)

### 1.2.1. Механізми токсичного впливу Cr(VI) в організмі

Токсичність Cr(VI) напряду пов'язана зі здатністю цієї сполуки легко проникати крізь мембрану клітини. Сполуки Cr(VI) є водорозчинними та надходять у клітину через неселективні ізоелектричні та ізоструктурні аніонні канали, які у достатній кількості наявні у мембранах клітин. Основною функцією цих каналів є транспортування аніонів  $\text{HPO}_4^-$  та  $\text{SO}_4^{2-}$ , які за своєю структурою дуже схожі до хромат- та дихромат-аніону ( $\text{CrO}_4^{2-}$  та  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) [61].

Токсичний та канцерогенний вплив Cr(VI) у клітинах живих організмів реалізується шляхом активації трьох основних механізмів: оксидативного стресу, прямого ушкодження клітинної ДНК та порушення епігенетичних механізмів регуляції геному [219].

Канцерогенні ефекти Cr(VI) в основному вивчалися при раку легень, оскільки легені є однією з основних мішеней Cr(VI). Сполуки Cr(VI) добре відомі своєю здатністю трансформувати нормальні епітеліальні клітини легень людини (BEAS-2B та 16HBE) в клітини, які виявляють властивості, подібні до ракових стовбурових клітин [281]. Cr(VI)-індукований канцерогенез легень, як правило, опосередковується аномальною передачею клітинних сигналів та активацією запальних реакцій. Хоча генотоксичність та мутагенність вважаються основними механізмами Cr(VI)-індукованого канцерогенезу, все більше сучасних досліджень вказують на те, що дисбаланс епігенетичних модифікацій та дисрегуляція некодуючих мікроРНК сприяють Cr(VI)-індукованому пухлиногенезу та злоякісній трансформації клітин [61; 62].

Побічні продукти відновлення Cr(VI), такі як гідроксильні радикали ( $\text{OH}^\cdot$ ), посилено генеруються за умов інтоксикації Cr(VI), взаємодіють із гуаніновими залишками нуклеїнових кислот, утворюючи радикальні аддукти. Одним із найпоширеніших представників радикальних ДНК-аддуктів є 8-гідроксидезоксигуанозин (8-OH-dG) – важливий біомаркер окисного пошкодження при онкології. Cr(V), який є продуктом відновлення Cr(VI), вважається найбільш

канцерогенною та генотоксичною формою Cr. Сполуки Cr(V) можуть безпосередньо окиснювати азотисті основи ланцюгової ДНК, в результаті чого формуються як 8- OHdG комплекси, так і розриви нуклеотидних ланцюгів та ДНК–аддукти [81; 177].

У процесі відновлення Cr(VI) до Cr(III) за участі відновленого глутатіону (ВГ) або аскорбінової кислоти, формуються ВГ/аскорбат–Cr(III)-комплекси. Відповідні комплекси здатні взаємодіяти з ядерною ДНК, формуючи таким чином ВГ/аскорбат–Cr(III)–ДНК аддукти, які порушують процеси реплікації та репарації клітинної ДНК [301]. Надлишковий Cr(III), отриманий шляхом відновлення Cr(VI), утворює бінарні аддукти (Cr(III)–ДНК) з ланцюгами ядерної ДНК. Проте, потрійні аддукти ВГ/аскорбат–Cr(III)–ДНК характеризуються значно більшою токсичністю у порівнянні з бінарними аддуктами Cr(III)–ДНК. Саме потрійні аддукти типу аскорбат–Cr(III)–ДНК провокують 90% мутагенних порушень за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу. У лабораторних щурів лінії *Sprague-Dawley*, які піддавалися внутрішньоочеревинній інтоксикації Cr(VI) впродовж 5-ти діб, спостерігалася активація ензимів системи АОЗ з метою протидії оксидативному стресу, а в лімфоцитах підвищувалася частота структурних ушкоджень ДНК [51].

Дослідження *in vitro* показали, що тіольні груп (-SH), які входять до складу аскорбінової кислоти, ВГ та цистеїну, відіграють ключову роль у процесах відновлення Cr(VI). За відсутності відповідних відновних компонентів посилюється інтенсивність процесів формуванням реакційноздатних проміжних сполук, таких як  $\text{OH}^-$ , активних АФО/АФН, Cr(V) та Cr(IV). У процесі відновлення Cr(VI) за участі ВГ формується ~75% комплексу Cr(V)–ВГ та 25% вільного Cr(V), тоді як процеси відновлення цистеїном сприяють накопиченню лише вільного Cr(V). Важливо, що ступінь генотоксичності Cr(VI) у двох відповідних випадках значно відрізняється, оскільки інтенсивність зв'язування важкого металу з ДНК залежить від концентрації та стабільності вільних Cr(V) аніонів. З іншого боку, в результаті Cr(VI)-індукованого ушкодження ДНК, формуються міжланцюгові ДНК–ДНК перехресні зшивки, частота виникнення яких знижується під впливом цистеїну та лімітується за високих концентрації Cr(VI) у присутності ВГ. Цікаво, що відновлення Cr(VI) цистеїном проходить у 2 етапи, шляхом передачі одного з електронів на кожному етапі.

Відновлення у присутності ВГ може відбуватися шляхом перенесення обох електронів за 1 етап, проте за фізіологічних умов все таки переважає спосіб передачі по одному електрону у 2 етапи [213; 219].

У процесі внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) окрім Cr-ВГ комплексів генеруються також комплекси з нікотинамідаденіндинуклеотидфосфатом (НАДФН). Формування комплексів Cr(V)-ВГ переважно відбувається в цитоплазмі, тоді як утворення Cr(V)-НАДФН комплексів здійснюється в мітохондріях або ендоплазматичному ретикулумі. Такий розподіл пояснюється тим, що концентрація ВГ у цитоплазмі клітин приблизно на три порядки вища, ніж НАДФН/НАДН [275]. Аніони Cr(VI) можуть отримувати електрони безпосередньо від клітинних антиоксидантів, таких як аскорбінова кислота, яка є первинним внутрішньоклітинним відновник для Cr(VI), цистеїну, пероксиду водню ( $H_2O_2$ ), вітамінів, рибофлавіну,  $\alpha$ -токоферолу. Аскорбінова кислота забезпечує відновлення 80–90% загального Cr(VI), демонструючи швидкість відновлення в 60 та 10 разів вищу, ніж за участі ВГ та цистеїну відповідно. Крім того, Cr(VI), відновлений за допомогою аскорбінової кислоти, генерує значно менші кількості Cr(V) та інших окиснювачів у порівнянні з ВГ та цистеїном [213; 219; 301].

Cr(VI) у процесі відновлення до Cr(III) спричиняє пошкодження геномної ДНК шляхом формування апуринових/апиримідинових сайтів у дволанцюговій структурі ДНК. Cr(VI) формує комплекси з протеїнами та амінокислотами, які в результаті взаємодії з ДНК спричиняють одно- та дволанцюгові розриви спіралі. Цікаво, що вибіркоче утворення Cr(VI)-індукованих дволанцюгових ДНК розривів спостерігається в еухроматині, незважаючи на присутність Cr-ДНК аддуктів як у еухроматині, так і у гетерохроматині [301]. Cr(VI)-індуковані ушкодження та зшивання ДНК переважно виникають у ділянках з високою активністю процесів реплікації та транскрипції ДНК. Така вибіркочість локалізації ушкоджень вказує на те, що порушення регуляції транскрипції є одним із найважливіших механізмів канцерогенності Cr(VI) [49; 286].

### 1.2.2. Стан про/антиоксидантної системи за дії Cr(VI)

Cr(VI) це потужний прооксидант, який займає 7-ме місце у рейтингу отруйних сполук згідно класифікації «Агенства реєстру токсичних речовин та захворювань» [284]. Токсичність Cr(VI) прямо пропорційна його дозі та часу впливу. Cr(VI) індукує регуляцію транскрипції генів пов'язаних з апоптозом, таких як p53, каспаза 3/9, та знижує регуляцію генів, залучених до антиоксидантного шляху [148]. Довготривалий вплив Cr(VI) викликає більш важкий стан оксидативного стресу та індукує опосередковану АФО загибель клітин [288], яка супроводжується деполяризацією мітохондрій та активацією каспаз [252].

Сполуки Cr(VI) за умов фізіологічного рН швидко дисоціюють у біологічних рідинах до тетраедричних хромат-аніонів ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ;  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ). Відповідні Cr-аніони легко проникають крізь мембрану клітини через неселективні аніонні канали або шляхом пасивної дифузії. Cr(VI) може надходити у клітину також за допомогою трансмембранного протеїну обмінника аніонів 1 (AE1), який виконує транспорт аніонів хромату, сульфату та фосфату через плазматичну мембрану шляхом аніонного обміну. Всередині клітин прооксидантний статус Cr(VI) активує механізми оксидативного стресу [213].

Оксидативний стрес є одним із основних механізмів Cr(VI)-індукованої токсичності, який характеризується дисбалансом між процесами продукування АФО/АФН та здатністю системи АОЗ нейтралізувати відповідні вільні радикали. Розвиток оксидативного стресу у клітинах як правило виникає після надмірної генерації АФО у відповідь на прооксидантний вплив або як наслідок порушень у функціонуванні ензиматичного та неензиматичного компонентів системи АОЗ [215; 268].

Основними представниками АФО, які продукуються клітинами організмів є  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , супероксид аніон ( $\text{O}_2^-$ ). При низьких або помірних концентраціях АФО необхідні для виконання важливих клітинних процесів, таких як: фосфорилування протеїнів, регуляція специфічних транскрипційних факторів, біосинтетичні реакції, активація апоптозу, імуних механізмів, забезпечення клітинної сигналізації. Однак,

після порушення окисно-відновної рівноваги, АФО посилюють свій шкідливий та деградуєчий вплив на важливі клітинні біомолекули (протеїни, ліпіди, нуклеїнові кислоти). Тривалий стан оксидативного стресу тісно пов'язаний з прогресуванням та розвитком раку, діабету, метаболічного синдрому, атеросклерозу, хвороби Альцгеймера та серцево-судинних захворювань. Саме тому, клітинний статус ензиматичних та неензиматичних антиоксидантів завжди підтримується на високому рівні з метою регуляції вмісту АФО та попередження розвитку стану оксидативного стресу [120; 215].

Після проникнення у клітину, Cr(VI) вступає у поетапні реакції відновлення до Cr(III). Подібно до Феруму (Fe) чи Купруму (Cu), Cr є окисно-відновним металом. Таким чином у процесі внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) генерується велика кількість АФО. Кожен етап відновлення Cr(VI) до Cr(III) передбачає використання  $H_2O_2$  з наступним формуванням аніонів  $OH^-$  у ході реакцій Фентона [27; 91; 190].

Відновлення Cr(VI) вважається процесом детоксикації, якщо відповідний процес відбувається на відстані від ядра та інших клітинних органел або поза межами клітини. У цьому випадку аніони Cr(VI) зв'язуються з металотіонеїнами або відновлюються у міжклітинному просторі до менш реакційноздатної форми Cr(III) [89; 251]. У випадку відновлення Cr(VI) всередині клітини, розвивається стан опосередкований оксидативним стресом та токсичністю, з наступним пошкодження клітинних органел та ДНК [274]. Процеси відновлення Cr(VI) більш безпечні та ефективні, якщо вони проходять у цитоплазмі, де вміст антиоксидантів та редуктантів є найвищим. Небезпечним є варіант проникнення Cr(VI) у ядро клітини, де продукти його відновлення можуть безпосередньо пошкоджувати структуру ДНК [230]. У свою чергу, відновлення Cr(VI) до Cr(III) поза клітиною, сприяє тому, що проміжні продукти відновлення Cr(VI) не можуть транспортуватися до клітинних компартментів і токсичний ефект у цьому випадку суттєво знижується [57]. Клітини тварин використовують внутрішньоклітинні аніони Cr(VI) як акцептори електронів та детоксикують їх шляхом виробництва відповідних специфічних ензимів [89; 251].

Реакції відновлення Cr(VI) проходять за участі внутрішньоклітинного ВГ, аскорбінової кислоти, біологічних тіолів та амінокислотних залишків цистеїну.

Поетапне двоелектронне відновлення Cr(VI) *in vivo* відбувається за участі аскорбінової кислоти, у результаті чого генерується проміжний продукт реакції Cr(IV). За умов зниженого рівня аскорбінової кислоти у біологічному середовищі Cr(VI) відновлюється до високореакційноздатного Cr(V) шляхом перенесення одного електрона у присутності ВГ. На наступному етапі проміжні продукти відновлення Cr(VI), такі як Cr(IV) та Cr(V), відновлюються до Cr(III) у присутності внутрішньоклітинних відновників (ВГ, аскорбінової кислоти, тіолів) [62]. Cr(VI) відновлюється також ензиматичним шляхом за участі флавоензиму ГР до Cr(V) у результаті чого генеруються  $O_2^-$  [4]. У процесі ензиматичних та неензиматичних шляхів внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) до Cr(V) формується велика кількість аніонів  $OH^-$  за механізмом реакцій Фентона у присутності  $H_2O_2$ . У свою чергу ендогенний  $O_2^-$  та  $H_2O_2$  генерують  $OH^-$  у присутності Cr(VI) за механізмом хімічних реакцій Габера-Вайса. Cr(VI) сприяє накопиченню  $O_2^-$  шляхом порушення біохімічних процесів у клітині і як наслідок підвищенням ензиматичної активності НАДФН-оксидази [4; 49; 51]. Основною функцією НАДФН-оксидази у клітинах є продукування АФО, таких як  $O_2^-$  та  $H_2O_2$ . Саме тому посилена активація відповідного ензиму може бути причиною додаткового накопичення АФО у клітинах інтоксикованих Cr(VI) [85]. Аніон  $O_2^-$ , який найбільш інтенсивно генерується мітохондріями, додатково взаємодіє з оксидом нітрогену (NO), формуюючи пероксинітрил ( $ONOO^-$ ), який є потужним представником АФН [111].

Таким чином, надмірна Cr(VI)-індукована генерація АФО та АФН призводить до розвитку стану оксидативного стресу з наступним ушкодженням ліпідних та протеїнових компонентів клітин. Зокрема,  $H_2O_2$  та  $OH^-$ , які генеруються у присутності Cr(VI), атакують мембранні ліпіди та запускають механізми циклічного пероксидного окиснення ненасичених жирних кислот у складі клітинної мембрани. Проміжні продукти відновлення Cr(VI) у присутності  $H_2O_2$  зв'язуються з протеїновими, пептидними та амінокислотними функціональними групами з наступним формуванням модифікованих пептидних карбонільних груп. Карбонільні групи протеїнів (КГП) є маркерами Cr(VI)-індукованого оксидативного ушкодження та

свідчать про модифікаційні порушення у будові структурних, функціональних протеїнів та ензимів [91].

АФО ( $O_2^-$  та  $H_2O_2$  генерують  $OH^-$ ) самі по собі відіграють роль важливих вторинних месенджерів та активаторів метаболічних шляхів у клітині. Однак, надмірне Cr(VI)-індуковане накопичення АФО призводить до порушення процесів апоптозу, клітинної сигналізації, гомеостазу клітин, хронічного запалення та генетичної нестабільності. Зокрема, виявлено, що Cr(VI) індукує активацію таких транскрипційних факторів, як ядерний фактор каппа бета (NF- $\kappa$ B), протеїн-активатор 1 (AP-1) та ядерний еритроїдний фактор 2 (Nrf2), які залучені у регуляції оксидативного стресу, запалення та онкологічних процесів [51]. Cr(VI)-індуковане накопичення АФО призводить до порушення окисно-відновного балансу, пошкоджень клітинної ДНК, РНК та порушення структури мітохондрій. Загалом, стимульований дією Cr(VI) оксидативний стрес сприяє активації процесів ПОЛ, стимуляції протеїнази С, порушення активності ензимів, фрагментації ДНК та індукції апоптозу шляхом дисрегуляції p53, каспази-3, протеїну В-клітинної лімфоми 2 (Bcl-2) та Bcl-2-асоційованого протеїну X (Bax) [4; 252].

Антиоксиданти – це важливий клас молекул, який запобігає окисному пошкодженню клітинних компонентів, за умов інтоксикації прооксидантами, токсинами та важкими металами. Незважаючи на те, що кожен тип антиоксидантів має свої особливості дії, основними властивостями цих сполук є нейтралізація вільних радикалів, АФО та АФН з метою запобігання розвитку стану оксидативного стресу [186].

Клітинна система АОЗ, яка залучена у механізмах нейтралізації Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу, складається з комплексу ензиматичних та неензиматичних антиоксидантів. Такі важливі неензиматичні внутрішньоклітинні антиоксиданти, як ВГ, аскорбінова кислота, цистеїн, тіоредоксин, вітамін Е можуть безпосередньо нейтралізувати різні типи АФО шляхом донорства власних протонів та електронів, а також забезпечують процеси відновлення Cr(VI) та його проміжних продуктів (Cr(V/IV)) [91; 213; 262]. ВГ, аскорбінова кислота та вітамін Е здатні ефективно відновлювати вільні радикали та  $OH^-$  до нетоксичного  $H_2O$  [20; 54; 126] і

тим самими інгібують генерування відповідних АФО за умов внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) [91]. Вітамін Е ефективно запобігає ланцюговим реакціям ПОЛ у біологічних мембранах, шляхом прямого знешкодження ліпідних пероксильних радикалів [234].

ВГ є найважливішим неензиматичним антиоксидантом та головним хелатором металів, оскільки -SH група відповідної молекули має високу спорідненість саме до важких металів. ВГ виконує безпосереднє відновлення Cr(VI) до Cr(V), Cr(IV) та Cr(III) крок за кроком, віддаючи по одному електрону за раз. Клітинна концентрація ВГ у присутності Cr(VI) може різко знижуватися за рахунок споживання ВГ під час відновлення Cr(VI). Зазвичай 3 молекули ВГ необхідні для відновлення 1 молекули Cr(VI), і цей процес прискорюється за наявності високих концентрацій ВГ. Проте, у процесі відновлення Cr(VI) за участі ВГ формуються ВГ-Cr комплекси, які здатні зв'язуватися з ДНК та порушувати процеси реплікації та транскрипції [252]. Джерела літератури повідомляють, що ВГ-Cr комплекси піддаються подальшій нейтралізації та детоксикації шляхом трансформації у Cr-вмісні сполуки з подальшою екскрецією через нирки [242; 256]. Boşgelmez та ін. [37] було запропоновано, що Cr(VI)-індукована токсичність зростає при низьких концентраціях ВГ у зв'язку з посиленою генерацією високотоксичного Cr(V). Високий вміст ВГ запобігає накопиченню Cr(V) та комплексів ВГ-Cr(III) шляхом пришвидшеного відновлення Cr(VI) до Cr(III). Cr(III) є кінетично інертним за рахунок своєї d<sup>3</sup> електронної конфігурації. Саме за рахунок підвищеної інертності Cr(III), процеси обміну Cr(III)-асоційованих лігандів проходять дуже повільно [230].

Основними ензимами-антиоксидантами, які нейтралізують Cr(VI)-індуковані АФО та вільні радикали, є СОД, КАТ, ГП. Внутрішньоклітинна ГР забезпечує ензиматичне відновлення ВГ та Cr(VI) у присутності НАДФН. Таким чином ГР відповідає за нейтралізацію Cr(VI) та підтримує пул неензиматичного антиоксиданта ВГ, необхідного для функціонування ГП. Усі ці ензими класифікують як першу лінію клітинного захисту, оскільки вони напряду знешкоджують вільні радикали, АФО та забезпечують захист базових компонентів клітин на молекулярному рівні [187; 252].



СОД є ефективним антиоксидантом, який знижує хронічний Cr(VI)-індукований оксидативний стрес та захищає від летальних ефектів, пов'язаних з прооксидантним ушкодженням. Відповідний ензим підтримує окисно-відновний статус клітин за рахунок пригнічення процесів ПОЛ та окиснення ліпопротеїнів. Свою функцію СОД виконує шляхом дисмутації високо реакційноздатного  $O_2^-$  до менш токсичного  $H_2O_2$  та  $O_2$  [114]. У свою чергу КАТ та ГП остаточно розкладають  $H_2O_2$  до нерадикальних та нетоксичних продуктів  $H_2O$  та  $O_2$ . Зазвичай ГП працює спільно з КАТ над розщепленням  $H_2O_2$ . Однак ГП додатково виконує функцію відновника ГПЛ та інших органічних гідропероксидів. ГП ефективно працює при нижчих рівнях оксидативного стресу, тоді як КАТ надзвичайно важлива при високих концентраціях  $H_2O_2$  у клітині. У еритроцитах людини ГП є основним антиоксидантним ензимом, оскільки КАТ має меншу спорідненість до  $H_2O_2$  порівняно з ГП [252].

Cr(VI)-індукований оксидативний стрес демонструє органоспецифічну реакцію на різні антиоксидантні ензими, яка залежить від дози, тривалості та шляхів інтоксикації. Проте, збільшення інтенсивності процесів ПОЛ, виснаження пулу клітинного ВГ та низькомолекулярних тіолів спостерігається в усіх типах тканин [91]. Зокрема, одноразова внутрішньоочеревинна інтоксикація Cr(VI) у дозі 20 мг/кг призводить до накопичення ТБК-активних продуктів та вичерпання запасів ВГ у тканинах серця, легень, селезінки та яєчок лабораторних мишей-альбіносів [38].

Більшість ендогенних антиоксидантних ензимів інгібуються або пошкоджуються за умов більш тривалої та інтенсивної інтоксикації Cr(VI). Ступінь пригнічення ензиматичної активності системи АОЗ у цьому випадку прямо пропорційний до тривалості впливу та дози Cr(VI) [91].

Cuevas-Magaña та ін. [58] повідомляють, що підшкірна ін'єкція  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 15 мг/кг маси тіла супроводжувалася значним пригніченням ензиматичної активності СОД та КАТ у тканині нирок щурів лінії *Wistar* на фоні стимуляції процесів ПОЛ та генерації АФО. Потужний інгібуючий ефект Cr(VI) на ензими системи АОЗ пояснюється тим, що Cr(VI) безпосередньо модифікує активний центр відповідних ензимів шляхом витіснення металічного кофактора з каталітичного центру [4]. У

подальшому, інактивовані та дефектні ензими розщеплюються клітинними протеазами [189].

### **1.2.3. Вплив Cr(VI) на гематологічний профіль**

Cr(VI) є потужним прооксидантом, який за рахунок своєї низької стабільності та високого ступеню окиснення швидко відновлюється у внутрішньому середовищі клітин крові до більш стабільного Cr(III). Еритроцити крові активно поглинають та накопичують Cr(VI) з плазми [33; 221]. Husain та ін. [111] повідомляє, що Cr(VI) посилює утворення вільних радикалів та АФН, дестабілізує ензиматичні та неензиматичні компоненти системи АОЗ, модифікує протеїни, ліпіди, нуклеїнові кислоти, ушкоджує мембрани еритроцитів та лейкоцитів. Проміжні продукти відновлення Cr(VI) активують процеси генерації АФО, а також посилено зв'язуються з бета-ланцюгами гемоглобіну. В результаті взаємодії Cr(V)/Cr(IV) з гемоглобіном, формуються стабільні нерозчинні комплекси, які зберігаються в еритроциті протягом усього життєвого циклу і тим самим ускладнюють процеси транспортування O<sub>2</sub> та CO<sub>2</sub> [221]. Згодом, акумульований гемоглобіном Cr переноситься у селезінку в результаті процесів очищення крові від старіючих еритроцитів. Рівень Cr в еритроцитах вважається важливим індикатором ступеня Cr(VI)-індукованої інтоксикації [124].

Додатково, Cr(VI)-індукований оксидативний стрес спричиняє пригнічення функцій гемоглобіну, пов'язаних з приєднанням та заміщенням O<sub>2</sub>. Еритроцити інкубовані у присутності K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (1мМ) характеризуються підвищенням вмісту метгемоглобіну на фоні компенсаторної активації метгемоглобін-редуктази. Гемова група гемоглобіну містить фрагмент Феруму у відновленій формі Fe<sup>+2</sup>. У результаті Cr(VI)-індукованого окиснення Fe<sup>+2</sup> змінюється на Fe<sup>+3</sup>, утворюючи таким чином метгемоглобін – неактивну форму гемоглобіну. Метгемоглобін формує міцні зв'язки з O<sub>2</sub> у результаті чого еритроцити втрачають здатність до тканинного газообміну та перенесення O<sub>2</sub> до клітин. Концентрація метгемоглобіну підвищуються особливо інтенсивно в умовах індукованого Cr(VI) оксидативного стресу. Метгемоглобін-редуктаза відновлює метгемоглобін еритроцитів у присутності НАДН, проте ефекту

відповідного ензиму є недостатньо для стабілізації рівня метгемоглобіну за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  [111].

Cr(VI)-індукована інтоксикація призводить до порушення гематологічного профілю за рахунок значного зниження вмісту еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну та порушення корпускулярних параметрів гемоглобіну у крові лабораторних курчат та щурів [124; 244]. Відповідний ефект пояснюється тим, що Cr(VI) пригнічує еритроцитопоез, лейкоцитопоез у кістковому мозку та біосинтез гемоглобіну на фоні посилення  $Ca^{2+}$ /АТФ-залежних процесів еритроцитозу [124; 221]. Дисбаланс відповідних гематологічних показників у щурів за дії Cr(VI) супроводжується розвитком анемії. У свою чергу порушення корпускулярних параметрів еритроцитарного гемоглобіну (середній корпускулярний об'єм та концентрація) у щурів внаслідок інтоксикації Cr(VI) може бути причиною розвитку мікроцитарної та гіпохромної анемії [199]. Зниження кількості еритроцитів та лейкоцитів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  пов'язане з мембранними та іншими структурними ушкодженнями відповідних клітин, у відповідь на Cr(VI)-індуковану гіперпродукцію АФО. Зокрема, Cr(VI) у процесі відновлення модифікує ліпідні та протеїнові компоненти біологічних мембран клітин крові, що призводить до порушення стабільності їх біліпідного шару [109; 124; 221]. У відповідь на Cr(VI)-індуковану токсичність поверхня еритроцита вкривається виростами голкоподібної та бульбашкоподібної форми і такі клітини називають ехіноцитами. Саме Cr(VI)-індуковані процеси ПОЛ мембранних компонентів є причиною формування бульбашкоподібних структур, тоді як голкоподібні утвори виникають внаслідок інтеграції чужорідних молекул у біліпідний шар. Окрім цього, токсичний ефект Cr(VI) призводить до зміни морфології клітин крові за рахунок окисної модифікації протеїнів цитоскелету та структурних клітинних компонентів. Усі морфологічні порушення клітин крові значно знижують тривалість їх життєвого циклу та є явними ознаками Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [111; 221].

Ejoh та ін. [244] повідомляють, що інтоксикація  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 0,5 мг/кг протягом 7-ми діб може призводити до підвищення чисельності лейкоцитів крові лабораторних щурів у 2 рази, порівняно з контролем. Відповідний ефект свідчить про гемотоксичні та прозапальні властивості Cr(VI). Як відомо, Cr(VI) у дозі 20  $\mu$ М

індукує активацію запальних процесів у культурі ендотеліальних клітин судин людини шляхом посилення транскрипції та експресії таких прозапальних факторів, як: фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкін-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інфламосома NLRP3, молекула міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1) та молекула адгезії судинних клітин-1 (VCAM-1) [43]. Відповідно, кількість лейкоцитів крові інтоксикованих щурів може підвищуватися у відповідь на Cr(VI)-індуковані запальні процеси в епітеліальних клітинах стінок судин [67].

Безпечною концентрацією Cr у крові вважається значення  $< 3$  мкг/л. Відповідно до Бразильської програми медичного контролю та гігієни праці, норма вмісту Cr у сечі не повинна перевищувати концентрації 5 мкг/г креатиніну. Підвищена концентрація Cr у крові працівників промислового сектору хромування призводить до порушення енергетичного метаболізму в еритроцитах за рахунок пригнічення ензиматичної активності піруваткінази, креатинінкінази та аденілатциклази [145]. Відповідні ензими задіяні у процесах синтезу, перенесення та підтримання балансу АМФ, АДФ, АТФ та пірувату, які є ключовими компонентами системи енергетичного обміну. Токсичний ефект Cr(VI) призводить до деполяризації та пошкодження структури мітохондрій в еритроцитах та лейкоцитах щурів, що у свою чергу супроводжується порушенням процесів продукції АТФ та активацією механізмів апоптозу. Підтримання мітохондріального гомеостазу забезпечує збалансованість процесів окисного фосфорилування та енергетичного статусу клітин крові [33; 221]. Одним із Cr(VI)-індукованих механізмів дестабілізації клітинного метаболізму є власне мітохондріальний шлях апоптозу [295; 305]. Джерела літератури повідомляють, що 4-ох годинна інкубація клітин крові щурів з Cr(VI) у дозі 8 мг/кг маси підвищує інтенсивність апоптозу в 1,6 раза, порівняно з контролем, шляхом порушення механізмів функціонування мітохондрій [175]. Відповідний ефект пояснюється тим, що Cr(VI) пригнічує активність сигнальних шляхів АМФ-активованої протеїнкінази / коактиватора-1 рецептора- $\gamma$  (AMPK/PGC-1), що у свою чергу сприяє гіперекспресії динамін-залежного протеїну 1 (Drp1) та мітохондріального протеїну поділу 1 (Fis1), які в подальшому посилено стимулюють процеси поділу та фрагментації мітохондрій. В результаті підвищення частоти

мітохондріального поділу у цитоплазму клітини потрапляє велика кількість  $O_2^-$ , цитохрому С та вільних радикалів, які стимулюють каспазо-залежні механізми протеолізу та Bcl-2/Bax-залежні шляхи апоптозу [295; 305].

Згідно літературних даних внутрішньоочеревинна ін'єкція  $K_2Cr_2O_7$  (1/10 ЛД50) протягом перших 5 днів суттєво не впливала на зміни загальної кількості та окремих типів лейкоцитів у крові лабораторних мишей. Проте, на момент наступного 5-ти денного терміну інтоксикації, токсичний ефект Cr(VI) призводив до зниження загальної кількості лейкоцитів та нейтрофілів у крові мишей, що у свою чергу пов'язано з міслосупресивною дією Cr(VI) [221]. Токсичний ефект Cr(VI) індукує посилення процесів апоптозу нейтрофілів крові та пригнічення їх імунних функцій шляхом блокування механізмів формування нейтрофільних позаклітинних пасток та стимуляцію сигнальних шляхів АМРК/протеїну мішені рапаміцину (mTOR) з наступною експресією апоптоз-асоційованих протеїнів (Bax, каспаза-3, цитохром С) [175].

#### **1.2.4. Показники ліпідного обміну в крові тварин за дії Cr(VI)**

Ліпідний обмін відіграє ключову роль у підтриманні гомеостазу організму та забезпечує регуляцію синтезу, розщеплення, акумуляції та надходження ліпідів, які є основним джерелом енергії для клітин організму. Склад, структурні та функціональні властивості біологічних мембран дуже тісно пов'язані саме з ліпідним обміном, оскільки близько 50% компонентів відповідних мембран представлені фосфоліпідами та холестерином. Метаболіти ліпідів динамічно транспортуються міжклітинно та внутрішньоклітинно, піддаються постійній трансформації та окисненню у різних компартментах клітин з метою синтезу АТФ, гормонів, цитокінів, хемокінів та інших біомолекул. Дисбаланс обміну ліпідів призводить до розвитку патологічних станів, включаючи серцево-судинні захворювання, діабет, атеросклероз та ожиріння печінки [50; 249]. Показники ліпідного обміну крові, такі як вміст загальних ліпідів, холестеролу, ацилгліцеролів, ліпопротеїнів є важливими біомаркерами відповідних метаболічних порушень. Дисбаланс показників ліпідного обміну крові використовують для оцінки рівня інтоксикації організму важкими металами, зокрема

Cr(VI) [67; 97]. Інтотоксикація Cr(VI) у дозі 0,635 мг/кг протягом 7-ми діб призводила до підвищення вмісту триацилгліцеролів та холестеролу у плазмі крові лабораторних щурів в 1,7 та 1,9 рази відповідно [67]. Автори припускають, що відповідні зміни за умов інтоксикації Cr(VI) можуть вказувати на аномальну ензиматичну активність тригліцеридліпази та неспецифічної естерази, що призводить до накопичення триацилгліцеролів та холестеролу у крові.

Епідеміологічні дослідження проведені у Китайській провінції Шандунь свідчать про те, що вміст Cr у крові працівників галузі виробництва хроматів зі стажем роботи 1-13 років підвищений у 6 разів відносно норми, що у свою чергу пов'язано з дисліпідимією крові, накопиченням триацилгліцеролів, холестеролу, аполіпропротеїнів, зниженням вмісту ліпопротеїну А та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) [80]. Автори припускають, що Cr(VI)-індукована активація АФО інтенсифікує процеси ПОЛ та пошкоджує структуру ензимів ліпідного обміну, що призводить до стану дисліпідимії крові [80]. Аналогічний ефект спостерігався у кролів, які піддавалися пероральній інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  (5 мг/кг) протягом 10 тижнів, внаслідок чого вміст загальних ліпідів та холестеролу підвищувався у плазмі крові кролів після завершення періоду інтоксикації Cr(VI). Автори припускають, що Cr(VI)-індукований оксидативний стрес у цьому випадку призводив до гепатотоксичності та втрати цілісності клітинних мембран гепатоцитів, що власне і є причиною гіперліпідимії крові [70].

Нещодавні дослідження підтверджують роль Cr(VI) у порушенні ліпідного обміну в крові *in vivo*. Випоювання  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 0,05-0,125 мг/мл призводило до накопичення триацилгліцеролів, ЛПНЩ та зниження рівня ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) у крові лабораторних мишей після 30-ти добового періоду інтоксикації. Автори повідомляють, що токсичний ефект Cr(VI) у цьому випадку спричинений підвищенням експресію стерол-регулюючого елемент-зв'язуючого протеїну-1 (SREBP-1) та синтази жирних кислот (СЖК) крові мишей у 1,7 та 2,1 рази [152]. SREBP-1 є фактором транскрипції, який регулює експресію генів, залучених у процесах синтезу ліпідів. Надмірна експресія SREBP-1 активує процеси ліпогенезу, накопичення загальних ліпідів крові та тісно пов'язана з АФО-залежною

ліпотоксичністю, дисліпідимією, діабетом та іншими фізіологічними порушеннями. SREBP-1 залучений у таких клітинних процесах, як стрес ендоплазматичного ретикулу (СЕР), апоптоз, аутофагія, злаякісна трансформація клітин [248].

Гіперактивація СЖК у відповідь на Cr(VI)-індукований оксидативний стрес може бути причиною дисліпідимії крові, оскільки головною функцією СЖК є забезпечення процесів синтезу вільних жирних кислот [152]. Джерела літератури свідчать про те, що стимуляція експресії СЖК призводить до підвищення рівня 12 типів насичених та ненасичених вільних жирних кислот у плазмі крові пацієнтів з інвазивною протоковою карциномою грудей [289]. Важливо, що саме блокування активності СЖК пригнічувало міграцію злаякісних клітин молочної залози та сприяло нормалізації вмісту насичених та ненасичених жирних кислот [289].

Токсична дія Cr(VI) супроводжується накопиченням великої кількості АФО та вільних радикалів, які активно окиснюють та ушкоджують ліпідні компоненти клітинних мембран, фосфоліпіди та холестерол зокрема [14; 64]. Модифіковані дією АФО мембранні фосфоліпіди та холестерол активно гідролізуються та заміщуються новими синтезованими молекулами, що може бути причиною зниження вмісту відповідних ліпідних компонентів у плазмі крові [14; 202].

Влив Cr(VI) сприяє порушенню регуляції ліпідного метаболізму шляхом виснаження антиоксидантного сигнального шляху Nrf2/гемоксидаза-1 (НО-1). Головною функцією Nrf2 є стимуляція НО-1 та інших антиоксидантних ензимів, проте активність відповідного фактору транскрипції також регулює рівень експресії SREBP-1 та СЖК [152]. Згідно літературних даних, інтоксикація Cr(VI) у дозі 20μМ призводила до зниження експресії Nrf2 у гепатоцитах людини, що у свою чергу сприяло 60%-ій стимуляції експресії SREBP-1 та СЖК у відповідних клітинах [158]. Зважаючи на те, що відновлення активності Nrf2 у гепатоцитах супроводжується стабілізацією експресії SREBP-1 та СЖК, автори припускають, що саме Cr(VI)-індуковане пригнічення активності Nrf2 у гепатоцитах людини може бути причиною накопичення триацилгліцеролів та ЛПНЩ у плазмі крові.

### 1.2.5. Біохімічні особливості протеїнового обміну за дії Cr(VI)

Протеїновий обмін за нормальних умов визначається балансом між процесами синтезу та розпаду протеїнів у тканинах живих організмів [32]. Протеїни синтезуються з вільних амінокислот, які надходять в організм з їжею (кінцеві продукти травлення), або на основі синтезованих амінокислот (продукти метаболічного походження). Вільні амінокислоти транспортуються через кров або накопичуються у тканинах, формуючи амінокислотні пули. Концентрації амінокислот у відповідних пулах залежить від балансу між анаболізмом та катаболізмом протеїнів, а також від інтенсивності надходження амінокислот в організм та енергетичних потреб у ході процесів окиснення [223].

Амінокислоти використовуються клітинами для побудови м'язових протеїнів, мембранних глікопротеїнів, ензимів, гормонів та як попередники для синтезу ДНК/РНК [173]. Метаболічний шлях амінокислот залежить в основному від наявності поживних речовин у клітинах. У випадку, якщо організм перебуває у стані дефіциту основних енергетичних субстратів, то амінокислоти вступають у катаболічні шляхи розщеплення. У цьому випадку амінокислоти виконують роль субстратів-посередників для активації процесів глюконеогенезу, ліпогенезу та поповнення енергетичних субстратів, необхідних для функціонування циклу трикарбонових кислот. Загалом у тваринному організмі за умов голодування амінокислоти можуть постачати до 40% вуглеводного субстрату, необхідного для окиснення та поповнення енергетичних запасів клітин [173 239]. Підтримання нормального пулу амінокислот є необхідним для функціонування таких важливих молекул, як ВГ, поліаміни, таурин, серотонін, гормони щитоподібної залози, оксид нітрогену. Тим не менше, підвищений рівень амінокислот та їх метаболітів (аміак, диметиларгінін, гомоцистеїн) вважається патогенним та призводить до оксидативного стресу, серцево-судинних порушень, розладів нервової системи [223].

Інтоксикація Cr(VI) призводить до порушення у балансі протеїнового обміну за рахунок пригнічення процесів анаболізму, стимуляції катаболізму, порушення активності ензимів та виведення кінцевих продуктів метаболізму протеїнів. Зокрема,



токсичний вплив  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2 мг/кг протягом 3-ох тижнів супроводжувався вірогідним зниженням вмісту загального протеїну (в 1,6 рази), альбумінів (в 1,8 рази) та глобулінів (в 1,5 рази) у плазмі крові лабораторних щурів [68].

Дослідження останніх років свідчать про те, що токсичний ефект Cr(VI) супроводжується посиленням експресії генів катаболічних металопротеїназ *Mmp3/13/14* та *Adamts5*, які відповідають за розщеплення та деградацію протеїнів. Проте, рівень експресії мРНК анаболічних факторів *Col2a1*, *Sox9* та *Asan* значно знижується у присутності Cr(VI). Відповідні фактори регулюють процеси анаболізму протеїнів шляхом активації альтернативного сплайсингу, транскрипції та трансляції протеїнів [260]. Окрім порушення вмісту загального протеїну, токсичний ефект Cr(VI) призводить до зниження співвідношення альбумін/глобулін у плазмі крові лабораторних щурів. Співвідношення між альбумінами та глобулінами є маркером протеїнового обміну в організмі. Низькі значення альбумінів/глобулінів можуть свідчити про патологічний стан печінки, зниження резерву вільних амінокислот та стимуляцію катаболізму протеїнів у тварин за умов інтоксикації Cr(VI) [41; 258].

Більшість ензимів, які залучені у процесах метаболізму амінокислот та трансляції протеїнів інактивуються у присутності Cr(VI). Експресія 30S/50S рибосомальних протеїнів значно знижується за умов Cr(VI)-індукованої токсичності, що може бути причиною пригнічення інтенсивності анаболізму протеїнів [243]. Дослідниками встановлено, що Cr(VI) стимулює вивільнення протеїну Grp78 з наступною активацією ATF6 у гепатоцитах щурів та клітинній лінії легень. Відповідні зміни призводить до СЕР та порушення протеїнового обміну. Накопичення розгорнутих та неправильно згорнутих протеїнів у просвіті ендоплазматичного ретикулуму називають станом СЕР. У відповідному стані клітина активує захисні механізми, які передбачають тимчасове інгібування трансляції протеїнів та стимуляцію катаболізму помилково згорнутих протеїнів з метою відновлення нормального функціонального стану тканин [90; 303].

Стимуляція катаболізму протеїнів за умов інтоксикації Cr(VI) посилюється з метою відновлення пулу амінокислоти гамма-глутамілцистеїну, яка є ключовим компонентом для синтезу ВГ. ВГ є основним неезиматичним антиоксидантом, який

пришвидшує процеси відновлення Cr(VI) та нейтралізує вільні радикали за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Саме тому процеси катаболізму структурних протеїнів додатково стимулюються у відповідь на Cr(VI)-індукований оксидативний стрес [91]. Cr(VI)-індукована активація процесів розщеплення та деградації протеїнів призводить до накопичення сечовини та креатиніну у плазмі крові, які є кінцевими продуктом обміну амінокислот. Дія Cr(VI) сприяє пошкодженню структури епітеліальних каналців та капілярів нефрону, сповільненню клубочкової фільтрації та стимуляції процесів некрозу у щурів лінії *Wistar*, що негативно впливає на видільну та бар'єрну функцію нирок [58]. Індукована дією  $K_2Cr_2O_7$  генерація вільних радикалів та АФО призводить до апоптозу клітин нирок лабораторних тварин шляхом активації проапоптичних протеїнів. Відповідні Cr(VI)-індуковані ушкодження фільтрувального апарату нирок призводять до значного зниження ефективності видільної функції нефрону та розвитку стану протеїнурії. Як наслідок, концентрація кінцевих продуктів розпаду протеїнів (креатинін, сечовина) у крові зростає, а вміст загального протеїну плазми крові, навпаки, знижується [58; 79; 305]. Причиною зниження інтенсивності процесів анаболізму протеїнів може бути Cr(VI)-індукований апоптоз гепатоцитів. Печінка є важливим органом, який відповідає за процеси синтезу протеїнів та переамінування амінокислот [246]. Інттоксикація  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 6 мг/кг протягом 30 діб призводить до ушкодження мембран гепатоцитів, активації каспазо-3 та Bcl-2/Bax-залежних шляхів апоптозу. Більше того, відповідна доза  $K_2Cr_2O_7$  призводить до порушення енергетичного балансу та гомеостазу гепатоцитів шляхом зниження пулу внутрішньоклітинного АТФ у 2 рази [295] та пригнічення амінотрансферазної активності у 2,5 рази [287]. Автори припускають, що саме потужний гепатотоксичний ефект Cr(VI) є однією з головних причин порушення протеїнового обміну у гепатоцитах щурів [287; 295].

### **1.3. Біохімічні особливості дії естерів тіосульфокислот**

Естери тіосульфокислот (тіосульфонати) – це синтетичні аналоги органічних сульфуровмісних сполук фітонцидної природи, виділених з часнику (*Allium sativum*), цибулі (*Allium cepa*), різних видів капустяних (особливо цвітної капусти) та

глибоководного їжака (*Echinocardium cordatum*) з загальною формулою  $\text{RSO}_2\text{SR}'$ . Як правило, «R» представляє собою залишок аніліну, тоді як «R'» – це переважно алкільна група ( $-\text{CH}_3/-\text{C}_2\text{H}_5/-\text{C}_3\text{H}_5$ ) [162; 167].

Дослідження тіосульфонатів розпочалися після виділення природного антибіотику аліцину з екстракту часнику (*Allium sativum*). Аліцин – це низькостабільний аліловий ефір алілтіосульфїнової кислоти (allylthiosulfine acid), який ще називають діалілтіосульфонатом [167; 169]. Біологічна активність аліцину характеризується антиоксидантними, нейропротекторними, антимікробними, гіполіпідимічними, антиканцерогенними та протизапальними властивостями. Проте, аліцин є нестабільною молекулою, яка швидко перетворюється на ряд інших сірковмісних сполук, таких як діалілдисульфід.

Зважаючи на позитивні властивості аліцину на фоні низької стабільності його молекулярної структури, науковці розпочали дослідження штучно синтезованих сірковмісних аналогів – тіосульфонатів. Естери тіосульфокислот (тіосульфонати) в порівнянні зі складними ефірами тіосульфїнової кислоти (аліцином) є стабільними сполуками та проявляють вищу ефективність, зокрема у плані антимікробної та протигрибкової активності [169].

Синтетичні тіосульфонати характеризуються широким спектром біологічної активності, підвищеною молекулярною стабільністю та низькою токсичністю у порівнянні з природними аналогами. Комп'ютеризований аналіз токсичності синтезованих естерів тіосульфокислот за допомогою програми GUSAR показав, що тіосульфонати належать до сполук IV класу токсичності. Це означає, що оральна  $\text{LD}_{50}$  для цих сполук складає більше 5000 мг/кг маси тіла. Естери тіосульфокислот характеризуються ефективними протигрибковими, протипухлинними, протизапальними, антимікробними, імуномодулюючими та антиоксидантними властивостями [169; 218].

Етилтіосульфанілат (ЕТС) є представником класу сполук тіосульфонатів. Згідно джерел літератури ЕТС характеризується антиоксидантними властивостями. Розчин ЕТС (0,1 М) ефективно відновлює 40% стабільних радикалів (2,2-дифеніл-1-гідразину) у середовищі з концентрацією відповідних радикалів 4 мг / 100 мл [162].

Відомо, що тіосульфонати є високореакційноздатними сполуками, які взаємодіють з нуклеофілами, електрофілами та вільними радикалами. Реакції нуклеофільного заміщення відбуваються з розривом -S-S-зв'язку за рахунок перерозподілу електронної густини в тіосульфогрупі молекули [169]. Згодовування ЕТС у дозі 100 мг/кг протягом 21 доби сприяло зростанню пулу неензиматичного антиоксиданта ВГ у еритроцитах щурів на 22% порівняно з контролем [162].

Представник тіосульфонатів, 2-аміноетан тіосульфонат характеризується антиоксидантними властивостями. Одноразова внутрішньоочеревинна ін'єкція відповідного тіосульфонату у дозі 2,4 ммоль/кг запобігала індукованому оксидативному стресу шляхом збереження пулу ВГ, активації ензимів АОЗ та попередження процесів ПОЛ у печінці та плазмі крові лабораторних щурів. Відповідна доза 2-аміноетан тіосульфонату сприяла 50%-ому зниженню активності біомаркерів гепатотоксичності (амінотрансферази) у плазмі крові щурів [5].

Відомо, що 2-аміноетан тіосульфонат є донором  $H_2S$ , який є важливим неензиматичним антиоксидантом та сигнальною молекулою. Нейтрофіли людини генерують  $H_2S$  та гіпотаурин шляхом розкладання тіотаурину (2-аміноетан тіосульфонату) у присутності ВГ.  $H_2S$  здатний безпосередньо знешкоджувати АФО та сприяти відновленню ОГ до ВГ, тим самим інгібуючи прооксидантиний ефект вільних радикалів [28].

Дослідженню короткотривалий вплив гострої дози ЕТС на показники ліпідного, фосфоліпідного та протеїнового обміну в організмі лабораторних щурів [322]. Внутрішньоочеревинна дія ЕТС (300 мг/кг) протягом 3 діб не впливала на показники загального протеїну у крові, печінці та нирках тварин, проте супроводжувалася перерозподілом фракцій окремих груп протеїнів. Зокрема, відсотковий вміст альбумінів підвищувався, а  $\beta$ -глобулінів знижувався у відповідь на дію ЕТС. Проте, співвідношення альбумінів/глобулінів плазми крові у цьому випадку залишалось у межах норми [167]. Літературні джерела вказують на те, що зміна співвідношення альбумінів/глобулінів в діапазоні показників норми може вказувати на компенсаторно-приспосувальні реакції організму, проте відхилення від норми може свідчити про перебіг патологічних процесів [188; 220].

Гострий короткотривалий вплив ЕТС (300 мг/кг) супроводжувався зниженням вмісту триацилгліцеролів у крові, печінці та нирках лабораторних щурів. Більше того, дія ЕТС у цьому випадку призводила до зниження концентрації моно-, диацилгліцеролів та вільних жирних кислот у тканині печінки тварин. З одного боку, ці дані можуть свідчити про мобілізацію тканинних ліпідів та інтенсифікацію їх транспорту з тканин у кров за дії тіосульфонатів. З іншого боку, тіосульфонати можуть сприяти гальмуванню активності ензимів, які беруть участь у ліпідному синтезі [218]. Джерела літератури повідомляють, що природні аналоги тіосульфонатів (диалілтіосульфонат) та їхні сульфуровмісні метаболіти проявляють гіполіпідимічний ефект, сприяють зниженню рівня загальних ліпідів та холестеролу у крові шляхом інгібування активності 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктази [276].

Тіосульфонати залучені у механізмах регуляції імунної відповіді. Зокрема, 2-аміноетантіосульфонат індукує імуномодулюючу дію, запобігає гіперактивації нейтрофілів і лімфоцитів людини шляхом персульфідації специфічних протеїнів-мішеней [28]. Більше того, 2-аміноетантіосульфонат запобігає спонтанній активації процесів апоптозу нейтрофілів шляхом пригнічення активності каспази-3.

Окремі представники тіосульфонатів характеризуються антиканцерогенними властивостями. Зокрема, добова інкубація ракових клітин стравоходу людини (WHCO1) з R-тіосульфонатом у дозі 15  $\mu$ M сприяла зниженню проліферації відповідних клітин на 85%. Також, спостерігалася зупинка клітинного циклу на стадії G2/M з подальшою активацією апоптозу у ракових клітин WHCO1 [255].

Згідно літературних даних, пероральне введення пропіл-пропан тіосульфонату у дозі 0,5 мг/кг протягом 5-ти діб сприяє зниженню рівня прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$ , інтерлейкін-6 (IL-6), інтерлейкін-17 (IL-17), TNF- $\alpha$  та відновленню бар'єрної функції епітелію у товстій кишці мишей з експериментально індукованим колітом [272]. Автори припускають, що протизапальний ефект пропіл-пропан тіосульфонату пов'язаний з інгібуванням мітоген-активованих протеїнкіназ p38/p40/p42 (МАРК p38/p40/p42), які стимулюють вивільнення прозапальних цитокінів.

#### 1.4. Вітамін Е та його вплив на метаболічні процеси в організмі

Вітамін Е є біологічним жиророзчинним неензиматичним антиоксидантом. Однією з 8-ми ізоформ відповідного вітаміну є  $\alpha$ -токоферол, який характеризується найефективнішими антирадикальними властивостями та позитивною терапевтичною дією по відношенню до хвороби Альцгеймера, серцевих та онкологічних порушень [23]. Саме  $\alpha$ -токоферол ефективно пригнічує процеси окиснення довголанцюгових ненасичених жирних кислот клітинної мембрани. Ненасичені жирні кислоти реагують з  $O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  та  $RO_2H$  (органічні гідропероксиди). Відповідні вільні радикали та АФО сприяють пошкодженню клітин, порушуючи метаболізм та структуру біологічних мембран тих тканин, які містять особливо велику кількість ненасичених жирних кислот. Вітамін Е пригнічує дію протонів Гідрогену та вільних радикалів, інгібуючи таким чином реакції автоокиснення біомолекул. Дослідниками було встановлено, що процеси ПОЛ пригнічувалися у тканинах курчат, яким згодовували раціон з добавками вітаміну Е [124]. Важливо також те, що вітамін Е пригнічував окиснення ненасичених жирних кислот, таких як лінолева, у мембрані еритроцитів. А, дефіцит вітаміну Е стимулював процеси гемолізу еритроцитів, внаслідок активації процесів окисного ушкодження плазмалеми. Позитивний ефект вітаміну Е пов'язаний з пригніченням активності NO-синтази та експресії фактора активації апоптотичної пептидази 1 (АРАF1), що сприяє інгібуванню процесів генерації АФН та апоптозу у клітинній моделі хвороби Альцгеймера [96].

Вітамін Е широко визнаний як один із найпотужніших природних антиоксидантів. Антирадикальні властивості вітаміну Е ґрунтуються на здатності швидко відщеплювати свій фенольний атом Гідрогену з метою відновлення та нейтралізації вільних радикалів та АФО. В результаті відновлення радикальних продуктів вітамін Е трансформується у  $\alpha$ -токоферол радикал, який швидко відновлюється до вітаміну Е за участі вітаміну С. Відповідні реакції відновлення  $\alpha$ -токоферол радикалів у клітинах здійснюються за участі ВГ/вітамін С/вітамін Е антиоксидантної ланки. Відповідна ланка забезпечує безперервне постачання атомів Гідрогену від ВГ до вітаміну С з наступним відновленням вітаміну Е. Ензим ГР

підтримує відповідний пул клітинного ВГ, який є основним донором протонів, необхідних для регенерації окисненої форми вітаміну Е [208].

Організм людини схильний до накопичення  $\alpha$ -токоферолу завдяки активності протеїну транспортера  $\alpha$ -токоферолу ( $\alpha$ -ТТР) в печінці, який збагачує плазму крові  $\alpha$ -токоферолом. Окрім  $\alpha$ -ТТР, який локалізується переважно у печінці, система спеціальних токоферолзв'язуючих протеїнів визначає накопичення токоферолів у різних тканинах людини [54].

Основними харчовими джерелами сполук  $\alpha$ -токоферолу є рослинні олії, горіхи та насіння, оскільки відповідний вітамін синтезуються лише клітинами фотосинтезуючих організмів. У рослинах біосинтез  $\alpha$ -токоферолу проходить у цитозолі клітин з використанням ароматичних амінокислот та дезоксиулозо-5-фосфату [192].

Вітамін Е ефективно пригнічує проліферацію та індукує апоптоз пухлиногенних клітин. Антиканцерогенна дія вітаміну Е посилює міграції макрофагів та лімфоцитів до ділянок скупчення ракових клітин. Активовані імунні клітини вивільняють специфічні фактори некрозу пухлин, які пригнічують розвиток онкогенних клітин. Відомо, що сукцинат вітаміну Е (модифікований продукт) може специфічно індукувати апоптоз ракових клітин молочної залози та простати, не ушкоджуючи при цьому нормальні епітеліальні клітини відповідних залоз [54].

Вітамін Е характеризується протизапальними властивостями. Встановлено, що добавки  $\alpha$ -токоферолу сприяють зниженню активності прозапальних цитокінів, пригнічують експресію молекул адгезії та запобігають пошкодженню м'язової тканини за умов фізичних навантажень [95]. Зокрема, дія  $\alpha$ -токоферолу супроводжується інгібуванням транскрипційного фактору NF- $\kappa$ B з наступним пригніченням секреції TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 у скелетних м'язах, міокарді та нирках, що запобігає активації запальних процесів [23; 253]. Awadalla та ін. [23] повідомляють, що внутрішньоочеревинна ін'єкція  $\alpha$ -токоферолу у дозі 250 мг/кг значно знижувала рівень експресії Toll-подібних рецепторів TLR2/4 у тканині нирок щурів, що сприяло послабленню нефротоксичності, за рахунок відновлення структури ниркових каналців та зниження інфільтрації імунних клітин. Більше того, відповідна доза  $\alpha$ -

токоферолу сприяла активації молекулярного шляху Keap-1/Nrf2 у тканині нирок щурів. Загальновідомо, що саме Nrf2 є основним транскрипційним регулятором стійкості до оксидативного стресу та стимулює активність ензиматичної ланки АОЗ шляхом активації транскрипції генів [95].

Окрім імуномодуючої дії  $\alpha$ -токоферол характеризується антиалергічним ефектом та значно знижує присутність імунореактивних опасистих клітин у назальному епітелії за умов алергічного реніту. Gering та ін. [285] повідомляють, що внутрішньоназальне введення 20 мкл олійного розчину  $\alpha$ - токоферолу (1000 ум.од./г) сприяло пригніченню сигнального шляху фосфоінозитид 3-кінази/протеїн кінази В (PI3K/PKB) в опасистих клітинах мишей з алергічним ренітом. Автори припускають, що саме інгібування активності PI3K/PKB є ключовим фактором, який сприяє пригніченню алергічної реакції. PI3K/PKB активує mTOR, який стимулює ріст, проліферацію опасистих клітин та диференціацію мієлоїдних дендритних клітин.

Відомо, що вітамін Е пов'язаний з нейродегенеративною хворобою Альцгеймера, особливістю якої є посилення окисного ушкодження протеїнів, ліпідів та ДНК нейронів у людей старшого віку [45]. Характерними ознаками відповідного порушення є позаклітинні амілоїдні бляшки, які формуються в результаті агрегації амілоїду  $\beta$  (A $\beta$ ), який накопичується в результаті патологічного процесингу протеїну-попередника амілоїду (APP). Процеси агрегації A $\beta$  сприяють окисненню мембранних глікопротеїнів та ліпідів, що у свою чергу призводить до загибелі нейронів [54; 163]. Відомо, що пацієнти з Альцгеймером мають нижчі рівні вітаміну Е у плазмі та цереброспінальній рідині. Більш високі концентрації вітаміну Е у плазмі крові знижують ризик розвитку відповідної патології та пригнічують накопичення токсичного протеїну A $\beta$  [163]. Дослідження Gugliandolo та ін. [96] на клітинній моделі Альцгеймера *in vitro* продемонстрували, що  $\alpha$ -токоферол знижує цитотоксичність спричинену A $\beta$ . Більше того,  $\alpha$ -токоферол посилює регуляцію генів залучених у процесах неамілоїдного процесингу APP, в результаті чого накопичення A $\beta$  суттєво знижується.



## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Схема досліджень

Виконання досліджень за тематикою дисертаційної роботи проведено згідно науково-дослідних планів та завдань лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН. Дослідження проведені з залученням лабораторних щурів-самців лінії *Wistar*, маса тіла яких на початку експерименту становила 130–140 г. Піддослідних щурів утримували у віварії за умов нормальної циклічності освітлення (12 годин світло/12 годин темрява), провітрюваності повітря, кімнатної температури (22°C) та вологості повітря 50±20%.

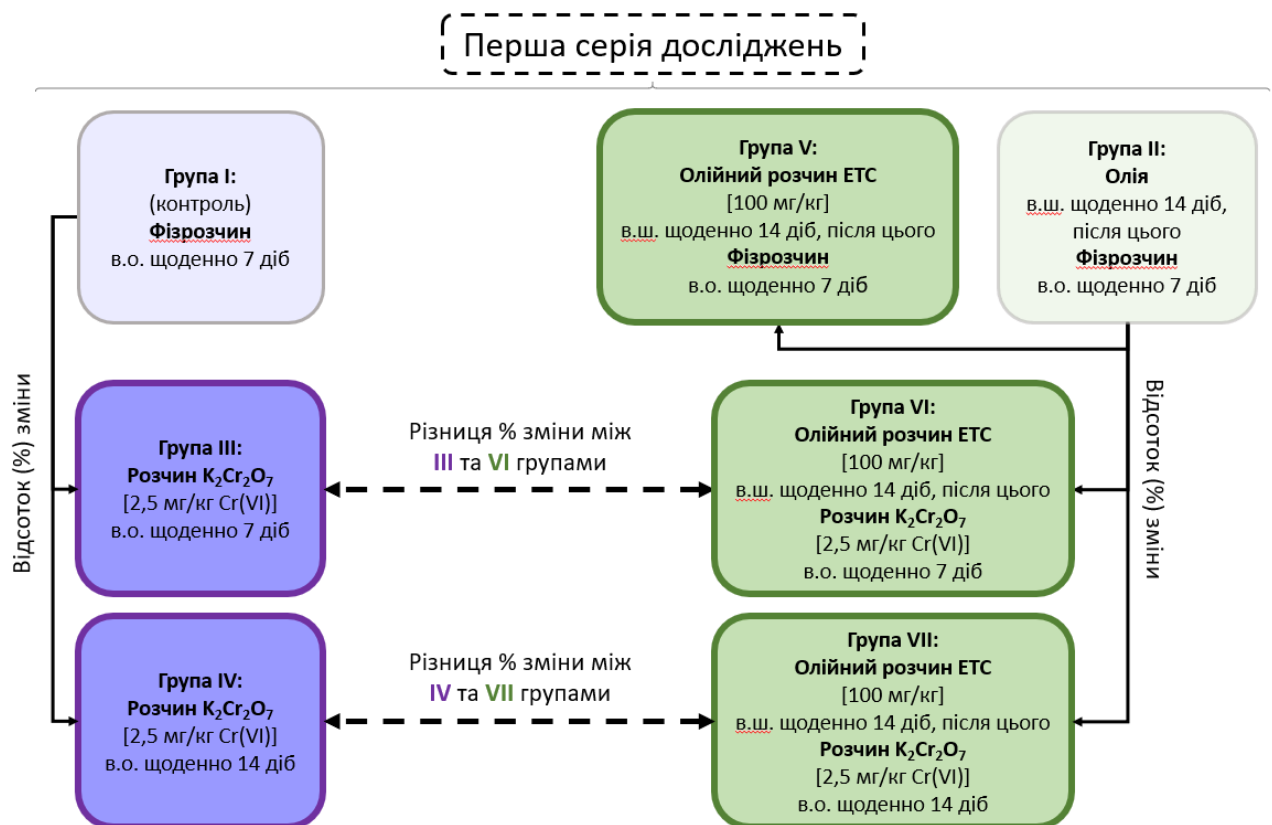
Лабораторним тваринам було забезпечено постійний вільний доступ до їжі та води. Добовий запас гранульованого корму та води щурі отримували з розрахунку на масу тіла (10 г корму/100 г маси тіла/добу; 15 мл води/100 г маси тіла/добу). Кількість спожитого комбікорму постійно контролювали та змінювали за потреби після аналізу залишку у годівниці.

Усі маніпуляції з лабораторними тваринами виконувалися з дотриманням вказівок «Європейської конвенції про захист лабораторних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001). Дозвіл на проведення досліджень отримано від комісії з біоетики Інституту біології тварин НААН м. Львова (протокол № 80, 124).

Відповідно до поставлених завдань експериментальна частина дисертаційної роботи була поділена на 2 серії досліджень. Схеми відповідних серій досліджень проілюстровано на рисунку 2.1 (перша серія досліджень) та рисунку 2.2 (друга серія досліджень).

Метою першої серії досліджень було з'ясування впливу етилтіосульфанілату (ЕТС) на метаболічні процеси в організмі лабораторних щурів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Відповідно до поставлених завдань було досліджено вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла на процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів, стан системи антиоксидантного захисту, показники ліпідного, протеїнового обміну та окремі гематологічні параметри в організмі щурів за умов Cr(VI)-індукованої інтоксикації

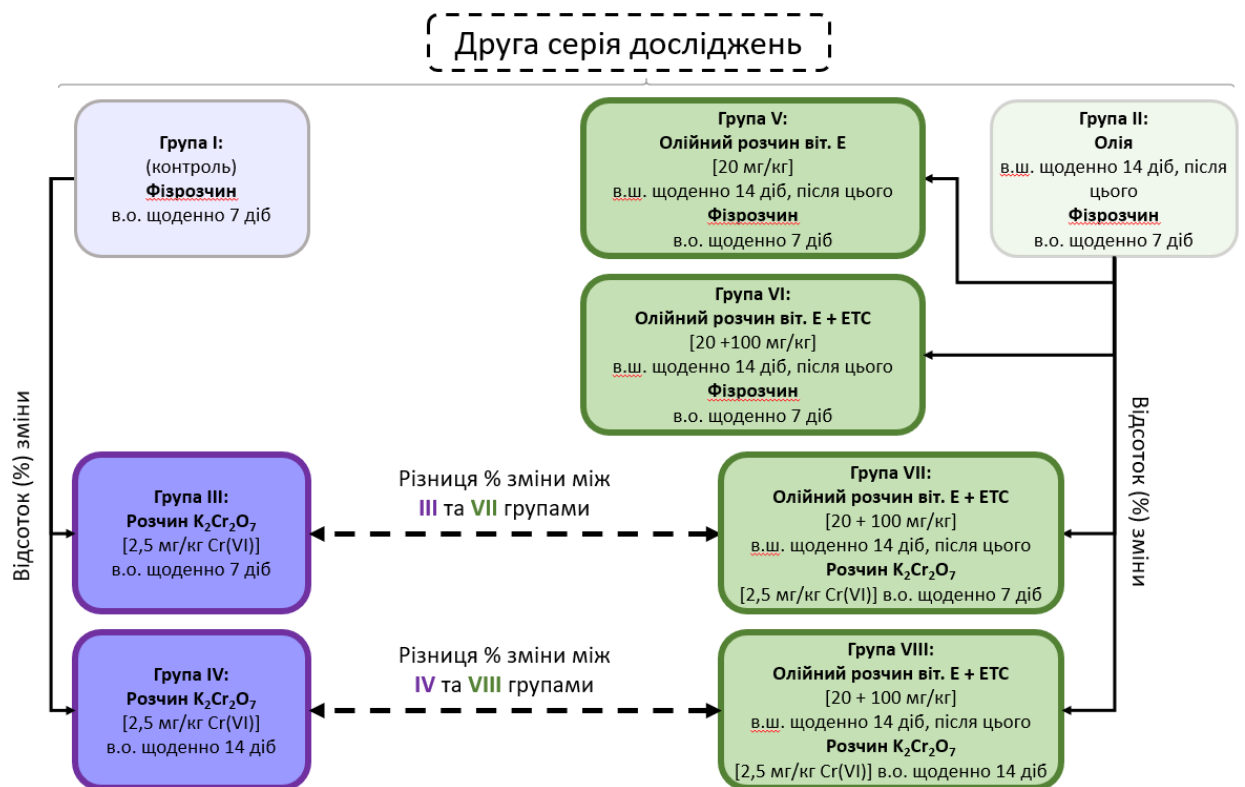
щурів. Піддослідних тварин було поділено на 7 груп (по 5 тварин у кожній групі) (рис. 2.1). Тваринам I групи (контроль) вводили 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7-ми діб. Лабораторні щури III та IV дослідних груп отримували 150 мкл розчину  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла на день протягом 7-ми (III група) та 14-ти діб (IV група). Тваринам II групи вводили 1000 мкл олії (марка «Олейна»; ПрАТ з П «ДОЕЗ»; ДСТУ 4492: 2017; ISO 14024) внутрішньошлунково щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили ін'єкцію 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 діб. Лабораторним щурам V групи внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили ін'єкцію 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 діб. Тварини VI та VII дослідних груп отримували внутрішньошлунково щоденно 1000 мкл олійного розчину ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію розчину  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла на день протягом 7-ми (VI група) та 14-ти діб (VII група).



**Рис. 2.1.** Схема першої серії досліджень

*Примітка:* в.о. – внутрішньоочеревинно; в.ш. – внутрішньошлунково.

Метою другої серії досліджень було з'ясування поєднаного впливу вітаміну Е та ЕТС на метаболічні процеси в організмі лабораторних щурів, яким вводили  $K_2Cr_2O_7$ . Відповідно до поставлених завдань було досліджено поєднаний вплив вітаміну Е (20 мг/кг маси тіла) та ЕТС (100 мг/кг маси тіла) на процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів, стан системи антиоксидантного захисту, показники ліпідного, протеїнового обміну та окремі гематологічні параметри крові щурів, яким вводили Cr(VI). Піддослідних тварин було поділено на 8 груп (по 5 тварин у кожній групі) (рис. 2.2).



**Рис. 2.2.** Схема другої серії досліджень

*Примітка:* в.о. – внутрішньоочеревинно; в.ш. – внутрішньошлунково; віт. Е – вітамін Е

Тваринам I групи (контроль) вводили 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7-ми діб. Лабораторні щури III та IV дослідних груп отримували розчин  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла на день протягом 7-ми (III група) та 14-ти діб (IV група). Тваринам II групи вводили 1000 мкл олії (марка «Олейна»; ПрАТ з П «ДОЕЗ»; ДСТУ 4492: 2017; ISO 14024) внутрішньошлунково щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили ін'єкцію 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 діб. Лабораторним щурам V дослідної групи внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олійного

розчину вітаміну Е у дозі 20 мг/кг маси тіла щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили ін'єкцію 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 діб. Щури VI дослідної групи внутрішньошлунково щоденно отримували 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг маси тіла) у поєднанні з ЕТС (100 мг/кг маси тіла) щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили ін'єкцію 150 мкл фізрозчину внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 діб. Тваринам VII та VIII дослідних груп внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг маси тіла) у поєднанні з ЕТС (100 мг/кг маси тіла) щоденно протягом 14-ти діб, після цього проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію розчину  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла на день протягом 7-ми (VII група) та 14-ти діб (VIII група).

Cr(VI)-індукований оксидативний стрес у лабораторних щурів моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину  $K_2Cr_2O_7$  (біхромат калію; виробник Казахстан; постачальник ООО «Хімпродукт ТД»; масова частка основної сполуки > 99,7) відповідно до тваринної моделі описаної у джерелах літератури [149; 212]. Щоденні одноразові введення розчину  $K_2Cr_2O_7$  (розведення в 0,9% NaCl) проводили впродовж 7-ми та 14-ти добового періодів з розрахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла. Відповідне дозування та періоди введення Cr(VI) підбирали з урахуванням літературних даних [149; 180; 212], які описують тваринну модель отруєння Cr(VI) шляхом введення внутрішньоочеревинних ін'єкцій  $K_2Cr_2O_7$ . Також, ми апробували відповідну дозу та періоди введення Cr(VI) на лабораторних щурах-самцях лінії *Wistar* попередньо до проведення дисертаційних досліджень. Для підтвердження розвитку стану оксидативного стресу проводили вимірювання рівня ГПЛ, ТБК-активних продуктів, КГП.

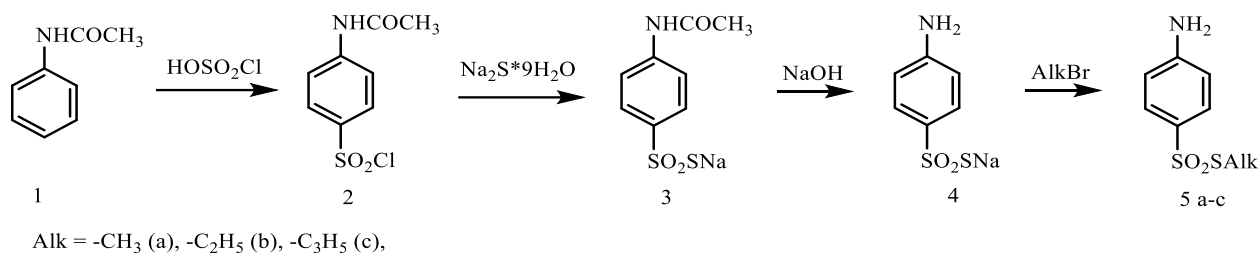
На наступний день після завершення періодів введення досліджуваних сполук та моделювання оксидативного стресу лабораторних щурів піддавали тіопенталовій анестезії (розчин тіопенталу натрію, 2–2,5%) [2]. Після анестезування проводили декапітацію тварин з наступним відбором дослідного матеріалу: кров (відбір проводили у присутності антикоагулянта – 1% розчину гепарину), тканини печінки та нирок.

Метою введення ЕТС окремо та поєднання його з вітаміном Е було попередження розвитку метаболічних порушень індукованих токсичною дією Cr(VI). Олійний розчин ЕТС (100 мг/кг маси тіла) та поєднання його з вітаміном Е (100 мг/кг + 20 мг/кг маси тіла) вводили внутрішньошлунково за допомогою зонду відповідно до моделі описаної у літературі [117; 128]. Дози досліджуваних сполук підбирали з урахуванням даних, описаних у літературних джерелах [218].

Групи тварин порівнювали за схемами, описаною на рисунках 2.1 і 2.2. I група – це контроль по відношенню до III та IV дослідних груп, яким не вводили олійний розчин. II група - це контрольна група (олійний контроль) по відношенню до V, VI, VII та VIII дослідних груп, які отримували олійний розчин. Ми реєстрували відсоток (%) змін показників у III та IV дослідних груп порівняно з I групою (контроль) та % змін показників у тварин V, VI, VII та VIII дослідних групах порівняно з II групою (олійний контроль). На завершальному етапі ми аналізували % змін показників III/IV дослідних груп у порівнянні з I групою (контроль) та порівнювали його з % зміни у VI/VII/VIII дослідних груп щодо показників II групи (олійний контроль).

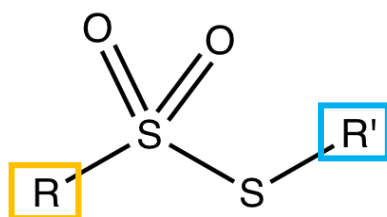
## **2.2. Досліджувані сполуки**

У роботі проводили оцінку ефективності новосинтезованої сполуки S-етил-4-амінобензентіосульфону (ЕТС) на метаболічні процеси в організмі тварин. ЕТС синтезували на базі кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» згідно з методикою, описаною у праці Лубенець В.І. [168]. Основними етапами синтезу ЕТС з похідної аніліну є (рис. 2.3): 1) отримання сульфохлориду шляхом додавання хлоросульфоновної кислоти; 2) окисно-відновна реакція у присутності розчину сульфід натрію з подальшим утворенням 4-ацетиламінобензентіосульфону; 3) додаткове очищення за участі натрієвої солі; 4) отримання кінцевого продукту (етил-4-амінобензентіосульфону) шляхом додавання алкілброміду (AlkBr) [168].



**Рис. 2.3.** Основні етапи синтезу ЕТС

Молекула ЕТС є представником синтетичних сірковмісних органічних сполук зі структурою RSO<sub>2</sub>SR'. До складу молекули ЕТС входить залишок аніліну (R) та алкільний залишок C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (R') (рис. 2.4) [141].



**Рис. 2.4.** Структурна формула молекули ЕТС

ЕТС відноситься до класу сполук тіосульфонатів (RSO<sub>2</sub>SR'), які є синтетичними аналогами природних біологічно активних сіркоорганічних сполук, виділених з часнику, цибулі, броколі, цвітної капусти та морського їжака. Нещодавні дослідження вказують на те, що ЕТС характеризується антиоксидантними та гіполіпідимічними властивостями [138]. Відомо, що синтетичні тіосульфонати мають ширший спектр біологічної активності та є більш стабільні, ніж їх природні аналоги. Тіосульфонати характеризуються низьким рівнем токсичності для організму тварин [169]. Літературні дані повідомляють, що природні сіркоорганічні аналоги тіосульфонатів демонструють широкий спектр біологічної активності, включаючи ефективні антиоксидантні та детоксикаційні властивості по відношенню до токсичності важких металів [178; 297].

Ефект ЕТС також досліджували у поєднанні з вітаміном Е (марка «Лекхім»; олійний розчин альфа-токоферол ацетату у дозі 50 мг/мл; код АТХ А11Н А03; ОТС; UA/6656/01/01) з метою підвищення ефективності протидії Cr(VI)-індукованій інтоксикації у лабораторних щурів. Вітамін Е є важливим неензиматичним антиоксидантом, який сприяє полегшенню перебігу Cr(VI)-індукованого

оксидативного стресу у поєднанні з іншими антиоксидантами у лабораторних тварин [183; 207; 266].

### **2.3. Приготування дослідного матеріалу**

Лізати еритроцитів отримували у процесі центрифугування цільної крові при 3500 об/хв упродовж 15 хв. Після осадження еритроцитів плазму крові відбирали в окремі пробірки з метою визначення біохімічні показників. Після цього проводили відмивання еритроцитів упродовж 15 хв за допомогою фізіологічного розчину (0,9% розчин NaCl; охолоджений) при 3500 об/хв. Процес відмивання повторювали тричі. Потім проводили гемоліз відмитих еритроцитів шляхом додавання 1 мл відмитих еритроцитів до 10 мл дистильованої води. Отриману суміш плавно збовтували протягом 10 хв, після чого проводили одноразове центрифугування (4000 об/хв) з метою осадження фрагментів еритроцитів. Після завершення центрифугування відділяли супернатант від отриманого осаду та проводили визначення біохімічних показників у супернатанті [309; 310].

Для приготування гомогенатів тканин використовували печінку та нирки тварин, які виділяли одразу після процесу декапітації та забору крові. Виділені органи охолоджували на льоду упродовж 5–6 хв, після чого проводили перфузію цих органів за допомогою фізіологічного розчину (0,9% розчин NaCl; охолоджений). Після цього органи подрібнювали ножицями та відбирали 1 г тканини для подальшої їх гомогенізації. Тканини (1 г) поміщали у скляний циліндр з охолодженим 5 мМ тріс-НСІ буфер, рН 7,4 (9 мл). Після цього тканину гомогенізували на протязі 30–40 с, виконуючи рухи скляного циліндра вверх та вниз відносно тefлонового ротора гомогенізатора (МРТУ — 421505-63). У процесі гомогенізації скляний стакан з досліджуваною тканиною охолоджували ззовні за допомогою мішечка наповненого подрібненим льодом. Після цього гомогенізовану тканину відфільтровували у центрифужну пробірку за допомогою двошарової марлі. Гомогенати центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об/хв ( $t = 0 \pm 2^\circ\text{C}$ ) з метою осадження клітинних стром. Після цього з пробірок відбирали надосадову рідину, яку використовували для визначення показників [310].

## 2.4. Методи досліджень

### 2.4.1. Визначення загального вмісту протеїну за методом Лоурі [165].

Вимірювання проводили з використанням стандартизованого набору "Simko LTD" (Україна, Львів). В основі методу лежить хімічна реакція взаємодії реактиву Фоліна-Чокальтеу з ароматичними амінокислотами (тириптофан, тирозин) та біуретова реакція з пептидними зв'язками протеїнів, з наступним формуванням кольорових продуктів. Досліджуваний зразок (вміст протеїну 10–100 мкг) додавали у пробірку та доводили дистильованою водою до об'єму 0,4 мл. На наступному етапі змішували 50 мл реактиву №1 (2%-й розчина натрію карбонату розведений 0,1 М розчином натрію гідроксиду) з 1 мл реактиву №2 (0,5%-й розчин купруму сірчанокислого, розведеного 1%-м розчином натрію цитрату) в результаті чого отримували реактив №3. У пробірку з розчином досліджуваного зразка вносили 2 мл реактиву №3 та перемішували скляною паличкою. Через 10 хв до суміші зразка та реактиву №3 вносили 0,2 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу. Оптичну густину суміші вимірювали через 30–40 хв спектрофотометричним методом при довжині хвилі 750 нм. Визначення загального вмісту протеїну проводили за допомогою калібрувального графіку.

### 2.4.2. Визначення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів [309].

Вміст ГПЛ (гідропероксидів ліпідів) визначали за принципом осадження протеїнів розчином трихлороцтової кислоти (ТХО) та екстракції ліпідів за участі етанолу. Цей метод заснований на спектрофотометричному вимірюванні рівня забарвленого продукту, який утворюється при взаємодії дослідних екстрактів (етанольних екстрактів ліпідів) з тіоціанатом амонію. Дослідні проби готували за температури  $\leq 4^{\circ}\text{C}$ . Плазму крові або гомогенат тканини об'ємом 0,2 мл змішували з 50%-м розчином ТХО (0,05 мл) та етанолом (2,8 мл) у центрифужних пробірках, які закручували корками. Пробірки поміщали на лабораторний струшувач та проводили струшування вмісту (5–6 хв). Далі пробірки центрифугували 10 хв при 3500 об/хв з метою осадження протеїнів. З пробірок виділяли 1,5 мл супернатанту (етанольний



екстракт ліпідів), який змішували з 1,2 мл етанолу. Пробірки з сумішшю струшували. Після цього до суміші вносили концентровану HCl (0,02 мл), розчин 1%-ї солі Мора розчиненої у 3%-й HCl (0,03 мл) та очікували 30 с. На наступному етапі додавали 20%-й розчин тіоціанату амонію і спостерігали появу малинового забарвлення.

Оптичну густину суміші визначали спектрофотометрично впродовж 10 хв при довжині хвилі 480 нм. Концентрацію гідропероксидів ліпідів визначали за різницею значень контрольних (вносили 0,2 мл дистильованої води замість біологічного зразка) і дослідних зразків та виражали в умовних одиницях на 1 мл крові або 1 г тканини (ОдЕ/мл або ОдЕ/г).

Формула для визначення концентрації гідропероксидів ліпідів:

$E_{480}$  (дослідної проби) –  $E_{480}$  (контрольної проби) =  $\Delta E_{480}$  (гідропероксидів ліпідів), де

$E_{480}$  – екстинкція проби при  $\lambda = 480$  нм;

$\Delta E_{480}$  – різниця екстинкцій дослідної та контрольної проб / вміст гідропероксидів ліпідів;

### **2.4.3. Визначення концентрації ТБК-активних продуктів [309].**

Принцип методу визначення вмісту ТБК-активних продуктів заснований на хімічній реакції малонового діальдегіду (МДА) з двома молекулами тіобарбітурової кислоти (ТБК). Поєднання високої температури та низького рН сприяє формуванню кольорового комплексу МДА та двох молекул ТБК (малинове забарвлення). Плазму крові (0,2 мл)/гомогенат тканини (1 мл) вносили у пробірки та змішували з 5 мл/4,5 мл фосфорно-вольфрамової кислоти. Пробірки закручували корками, струшували та поміщали у холодильник (15 хв). Далі пробірки центрифугували впродовж 15 хв (3000 об/хв; +4°C). Отриманий супернатант зливали, а до осаду вносили 2 мл H<sub>2</sub>O (дистильованої) та 1 мл тіобарбітурової к-ти (0,8%). Суміш у пробірках перемішували скляною паличкою, закручували корками та нагрівали за допомогою водяної бані до 100°C впродовж 1 години. На наступному етапі пробірки охолоджували під струменем холодної води, після чого центрифугували при 6000 об/хв впродовж 10 хв.

Концентрацію забарвленого продукту (комплекс однієї молекули МДА та двох молекул ТБК) вимірювали у надосадовій рідині спектрофотометрично при  $\lambda$  535 нм та  $\lambda$  580 нм. Отримані значення виражали як нмоль МДА на 1 мл плазми крові або нмоль МДА на 1 г тканини (нмоль/мл або нмоль/г).

Формула для визначення концентрації ТБК-активних продуктів:

$$C = 0,21 + 26,5 \times \Delta D, \text{ де}$$

C – вміст ТБК-активних продуктів;

$\Delta E$  – різниця екстинкцій ( $E_{535} - E_{580}$ ) проби;

#### **2.4.4. Визначення концентрації карбонільних груп протеїнів [324].**

Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів у дослідному зразку встановлюють шляхом визначення концентрації КГП (карбонільних груп протеїнів), які формуються під впливом АФО. Відповідний метод ґрунтується на хімічній взаємодії між карбонільними групами бічних ланцюгів амінокислот та 2,4-динітрофенілгідразином, внаслідок чого формуюється молекула 2,4-динітрофенілгідразону. Біологічний матеріал (0,1 мл плазми або 0,5 мл гомогенату тканини) змішували з 1 мл ТХО (кінцевий вміст ТХО суміші = 10%) та центрифугували при 5000 g впродовж 10 хв з метою осадження протеїнів. До протеїнового осаду дослідної проби вносили 1 мл 10мМ 2,4-динітрофенілгідразину розведеного у 2М НСl, а у контрольну пробу вносили 1 мл 2М НСl. Проводили інкубування суміші впродовж 1 години при 20°C, після чого центрифугували 10 хв при 5000 g. Отриманий осад промивали розчином етанолу та етилацетату (1 мл) та центрифугували 10 хв при 5000 g. Промивання та наступне центрифугування повторювали тричі. На наступному етапі відмитий осад розводили 6М гуанідингідрохлоридом (3 мл) впродовж 30 хв та центрифугували згідно попереднього етапу. Оптичну густина супернатанту вимірювали спектрофотометрично ( $\lambda = 370$  нм). Вміст КГП виражали у нмоль на 1 мг протеїну (нмоль/мг прот.), а в обрахунках використовували молярний коефіцієнт поглинання  $22000 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ .

Формула для визначення концентрації КГП:

$$[\text{вміст КГП}] = \Delta E_{370} \times 0,22 C^{-1}, \text{ де}$$

$\Delta E_{370}$  – різниця екстинкцій дослідної та контрольної проб;

0,22 – молярний коефіцієнт поглинання

C – маса біологічного матеріалу у пробі;

#### 2.4.5. Визначення супероксиддисмутазної активності (СОД: К.Ф. 1.15.1.1.) [309].

Метод визначення ензиматичної активності СОД ґрунтується на хімічній реакції відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) за участі супероксидних аніонів, які генерується у процесі взаємодії феназинметасульфату (ФМС) та НАДН. Продуктом відповідної реакції відновлення є нітроформаза. Інтенсивність відновлення НСТ до нітроформаза є обернено пропорційною до активності СОД у середовищі. Саме % блокування утворення нітроформаза відображає ензиматичну активність СОД.

Надосадову рідину гемолізату або гомогенату об'ємом 0,1 мл змішували з інкубаційною сумішшю (1,5 мл), до складу якої входить 300 мг НСТ, 37 мг ЕДТА, 55 мг ФМС розчинені у фосфатному буфері (0,15М; рН 7,8). Для приготування контрольної проби замість біологічного матеріалу використовували відповідний об'єм дистильованої води. На наступному етапі у проби вносили 0,1 мл 1мМ НАДН у буфері тріс-ЕДТА з рН 8,0. Проби інкубували 10 хв при температурі 20°C, після чого спектрофотометрично вимірювали оптичну густину суміші проти дистильованої води при  $\lambda = 540$  нм.

Формула для визначення активності СОД (% блокування нітроформаза):

$$[\% \text{ блокування (активність СОД)}] = \frac{K_e - D_e}{K_e} \times 100\%, \text{ де}$$

$K_e$  – контроль проба - екстинкція;

$D_e$  – дослід проба - екстинкція;

Ензиматину активність СОД позачали в 1 ум. од./ мг прот., з розрахунку 1 ум.од. = 50% блокування відновлення НСТ до нітроформазану. Для переведення % блокування відновлення НСТ до нітроформазану в ум. од./ мг прот. використовували калібрувальну криву.

#### **2.4.6. Визначення каталазної активності (КАТ: К.Ф. 1.11.1.6.) [309].**

В основі методу вимірювання активності КАТ лежить хімічна реакція між солями молібдену та  $H_2O_2$ , в результаті якої формується забарвлений стійкий комплекс. Інтенсивність відповідної кольорової реакції є прямопропорційною до концентрації  $H_2O_2$  у середовищі. Тому, інтенсивність забарвлення середовища проби залежить від ензиматичної активності КАТ.

Для приготування дослідної проби до 0,1 мл біологічного матеріалу (гемолізат, гомогенат) додавали до 2 мл 0,03% розчину пероксиду водню. Приготування контрольної проби розпочиналося з додавання 1 мл молібдату амонію (4%) і 2 мл розчину  $H_2O_2$  (0,03%). На наступному етапі проби інкубували 10 хв при 20°C, після чого вносили 1 мл  $H_2SO_4$  (0,25 Н) як у дослідну, так і у контрольну проби. Після цього у дослідну пробу додавали 1 мл молібдату амонію (4%), а у контрольну вносили 0,1 мл біологічного матеріалу (гемолізат, гомогенат). Контрольні та дослідні проби центрифугували (3000 об/хв) впродовж 5 хв. Оптичну густину забарвленої суміші вимірювали спектрофотометрично ( $\lambda$  410 нм). Активність ензиму виражали у ммоль пероксиду водню на 1 хв  $\times$  мг протеїну.

Формула для визначення активності КАТ:

$$[\text{активність КАТ}] = \frac{\Delta E \times V \times n}{\varepsilon \times C \times t \times \alpha \times 1}, \quad \text{де}$$

$\Delta E$  – різниця екстинкцій контрольної та дослідної проб;

$V$  – об'єм суміші який використовували для спектрофотометрії у мл;

$n$  – ступінь розведення біологічного матеріалу (у 100 разів);

$\varepsilon$  – молярний коефіцієнт екстинкції для  $H_2O_2$  – амоній молібдатного комплексу (22,2  $cm^2$  /мкмоль);

$C$  – концентрація протеїну у пробу (мг/мл);

t – тривалість хімічної реакції (10 хв);

$\alpha$  – об'єм біологічного матеріалу (мл);

l – відстань оптичного шляху (1 см);

#### **2.4.7. Визначення глутатіонпероксидазної активності (ГП: К.Ф. 1.11.1.9.)**

[309].

Принцип методу визначення ензиматичної активності ГП полягає у швидкості окиснення відновленого глутатіону (ВГ), яке стимулюється додаванням у середовище реакції гідропероксиду трет-бутилу. За допомогою спектрофотометра вимірюють оптичну густину середовища до та після стимуляції хімічної реакції за участі гідропероксиду трет-бутилу. Після взаємодії SH-груп ВГ з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК) формується кольоровий продукт (тіонітрофенільний аніон). Інтенсивність забарвлення (концентрація тіонітрофенільного аніону) відображає вміст ВГ у середовищі реакції.

До біологічного матеріалу (0,1 мл гемолізату або 0,2 мл гомогенату) додавали 830 мкл 0,1 М тріс-НСІ буферу (рН 8,5), до складу якого входили 12мМ  $\text{NaN}_3$ , 6 мМ ЕДТА та 4,8 мМ ВГ. Суміш інкубували впродовж 10 хв за температури 37°C, після чого вносили 20 мМ гідропероксид трет-бутилу (0,07 мл) та повторно інкубували впродовж 5 хв. На наступному етапі до суміші вносили 20%-у охолоджену ТХО (0,2 мл) з метою зупинки каталітичного окиснення ВГ за участі ензиму. У процесі приготування контрольної проби використовували вищеописану схему, лише 5-ти хвилинне інкубування проби з тріс-НСІ та трет-бутилом не проводили.

Після внесення ТХО усі проби центрифугували впродовж 10хв (4000об/хв). Надосадову рідину об'ємом 0,02 мл відбирали з пробірок та змішували з 2 мл 0,1М тріс-НСІ (рН 8,5) та 0,02 мл 0,01М ДТНБК розведеного у метанолі (реактив Елмана). Екстинкцію проб вимірювали на спектрофотометрі ( $\lambda$  412 нм; 1 см = довжина оптичного шляху). Активність ГП виражали у нмоль ВГ на 1 хвилину  $\times$  мг протеїну (нмоль/хв  $\times$  мг прот.).

Ензиматичну активність ГП розраховували за формулою:

$$[\text{активність ГП}] = \frac{\Delta E \times P}{E_c \times t \times V \times C}, \quad \text{де}$$

$\Delta E$  – різниця оптичної густини контрольної і дослідної проб;

$P$  – ступінь розведення біологічного зразка;

$E_c$  – оптична густина стандартної проби;

$t$  – тривалість хімічної реакції (5 хв);

$V$  – об'єм суміші у кюветі (мл);

$C$  – концентрація протеїну у біологічному зразку (мг/мл);

#### 2.4.8. Визначення глутатіонредуктазної активності (ГР: К.Ф. 1.6.4.2.) [44].

Принцип методу заснований на реєстрації швидкості відновлення окисленого глутатіону за участі ензиму ГР у присутності НАДФН. Відповідну швидкість відновлення вираховують спектрофотометрично за допомогою реєстрації інтенсивності зниження оптичної густини суміші при  $\lambda=340$  нм.

Визначення ензиматичної активності ГР проводили шляхом додавання 2 мл 0,15 М  $K_2HPO_4$  (рН 7,4); окиснений глутатіон (0,5 мл); ЕДТА (0,2 мл) при температурі 37°C. Хімічну реакцію запускали додаванням НАДФН (2мМ; 0,1 мл) та 0,2 мл дослідного зразка (гемолізат або гомогенат) до інкубаційної суміші, після чого спостерігали зниження екстинкції суміші при  $\lambda=340$  нм впродовж 1 хв. Активність ензиму виражали у мкмоль НАДФН /хв  $\times$  мг протеїну мкмоль НАДФН на 1 хвилину  $\times$  мг протеїну (мкмоль/хв  $\times$  мг прот.).

Ензиматичну активність ГР розраховували за формулою:

$$[\text{активність ГР}] = \frac{\Delta E \times V}{\varepsilon \times C \times t \times a \times 1}, \quad \text{де}$$

$\Delta E$  – різниця оптичної густини середовища на 1-шу та 60-ту секунду реакції;

$V$  – об'єм суміші у кюветі (мл);

$\varepsilon$  – молярний коефіцієнт екстинкції для НАДФН ( $6200 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ );

$t$  – тривалість хімічної реакції (1 хв);

$C$  – концентрація протеїну у біологічному зразку (мг/мл);

$\alpha$  – об'єм біологічного матеріалу (мл);

$l$  – відстань оптичного шляху (1 см);

#### **2.4.9. Визначення концентрації відновленого глутатіону [227].**

Принцип методу полягає у взаємодії сульфгідрильної групи глутатіону (SH-група) та ДТНБК з утворенням тіонітрофенільного аніону. Для визначення вмісту ВГ (відновленого глутатіону) використовували наступні реактиви: осаджуючий реагент (0,8 г трилону Б; 400 мл дистильованої  $H_2O$ ; 120 г NaCl; 6,68 г льодяної метафосфорної кислоти); реагент Елмана (0,04% ДТНБК розведений в 1%-му 3-заміщеному натрій цитраті); розчин  $Na_2HPO_4$  (0,3М) в дистильованій  $H_2O$ .

У дослідну пробу вносили 2 мл гемолізату/гомогенату тканини та 3 мл осаджуючого реагенту. Контрольну пробу готували шляхом змішування 3 мл осаджуючого реагенту та 2 мл дистильованої  $H_2O$ . Після 5-ти хвилинної інкубації ( $20^\circ C$ ) проби центрифугували при 3500 об/хв. Надосадову рідину відфільтровували від протеїнового осаду та отримували центрифугат. До 2 мл центрифугату дослідної та контрольної проби вносили 8 мл  $Na_2HPO_4$  (0,3М) та 0,1 мл реагенту Елмана. Очікували апродовж 5 хв та вимірювали оптичну густину суміші дослідної проби проти контрольної ( $\lambda$  412 нм). Концентрацію ВГ визначали за допомогою калібрувальної кривої та виражали у ммоль/л (гемолізат) або ммоль/г (гомогенат).

#### **2.4.10. Екстрагування ліпідів за методом Фолча [82].**

Метод ґрунтується на розділенні ліпопротеїнових комплексів за допомогою метанолу (полярний розчинник) з наступним екстрагуванням ліпідів за участі хлороформу (неполярний розчинник). Плазму крові (1 мл) вносили у пробірку з щільним корком та змішували з сумішшю хлороформ-метанолу (2:1) у співвідношенні 1:20, збовтували та інкубували 12 годин при температурі  $20^\circ C$ . Після цього відділяли осад шляхом пропускання суміші через знежирений фільтр. Отриманий осад промивали два рази хлороформ-метанольною сумішшю (5 мл) та доводили до вихідного об'єму цією ж сумішшю. На наступному етапі у пробу вносили 0,74М KCl (об'єм якого становив 20% від загального об'єму екстракту

ліпідів) з метою зв'язування неліпідних водорозчинних компонентів. Пробу збовтували та інкубували повторно 12 годин за температури 20°C. Поверхневу фракцію суміші видаляли, а нижню фракцію промивали хлороформ-метанольною сумішшю (8:4). Після цього суміш доводили метанолом (0,5–1 мл) до об'єму вихідної проби. В отриманому етанольному ліпідному екстракті проводили визначення концентрації загальних ліпідів та розраховували % вмісту окремих ліпідних та фосфоліпідних класів.

#### **2.4.11. Визначення концентрації загальних ліпідів гравіметричним методом [125].**

Гравіметричний метод передбачає отримання сухого залишку з етанольного екстракту ліпідів для подальшого його зважування. Пробірку з ліпідним етанольним екстрактом (вихідний продукт методу Фолча) переносили на 2 години у герметичний ексікатор (вакуумний) наповнений сухим NaOH (вологловлювач). Після цього пробірку з сумішшю зважували на аналітичних вагах. Загальний вміст ліпідів у пробі розраховували за формулою:

$$L = \frac{(A-B) \times 100}{C}, \text{ де}$$

L – загальний вміст ліпідів;

A – вага пробірки з ліпідами, г;

B – вага пробірки без ліпідів, г;

C – вага тканини, мг;

100 – коефіцієнт перерахунку, мг%;

#### **2.4.12. Визначення вмісту окремих класів ліпідів методом тонкошарової хроматографії [125].**

Визначення окремих класів ліпідів проводили у плазмі крові щурів згідно методу тонкошарової хроматографії (висхідної) на силікагелі у присутності комплексу розчинників гексан - діетиловий ефір - льодяна оцтова кислота (70: 30 : 1). Проявлення пластинок з силікагелем проводили за допомогою випарів кристалічного йоду. Сканування проявлених пластинок проводили за участі Canon LiDE 300. Після



цього отримували компютерні фореграми (програмний пакет: TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics Limited, Newcastle upon Tyne, Great Britain)) та проводили кількісне визначення відсоткового вмісту окремих класів ліпідів (від загального їх фракції). Аналізували вміст наступних класів ліпідів у крові: фосфоліпідів, моно-/ ди-/ триацилгліцеролів, НЕЖК (неестерифікованих жирних кислот), неестерифікованого / естерифікованого холестеролу.

#### **2.4.13. Визначення вмісту окремих класів фосфоліпідів методом тонкошарової хроматографії [125].**

Визначення окремих класів фосфоліпідів проводили у плазмі крові щурів згідно методу тонкошарової хроматографії (висхідної) на силікагелі у присутності комплексу розчинників хлороформ - метанол – H<sub>2</sub>O (65: 25 : 4). Проявлення пластинок з силікагелем проводили за допомогою випарів кристалічного йоду. Сканування проявлених пластинок проводили за участі Canon LiDE 300. Після цього отримували компютерні фореграми (програмний пакет: TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics Limited, Newcastle upon Tyne, Great Britain)) та проводили кількісне визначення відсоткового вмісту окремих класів фосфоліпідів (від загального їх фракції). Аналізували вміст наступних класів фосфоліпідів у крові: фосфатидної кислоти, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитулу, фосфатидилсерину, фосфатидилетаноламіну, лізофосфатидилхоліну, сфінгомієліну.

#### **2.4.14. Підрахунок кількості еритроцитів [325].**

Підрахунок еритроцитів проводили за допомогою камери Горяєва та світлового мікроскопа (мале збільшення: окуляр – 10x/15x; об'єктив – 8x) у затемненому полі зору (опущений конденсор / вузька щілина діафрагми). Розведення еритроцитів (1:200) виконували шляхом змішування 3,98 мл розчину NaCl (0,85%) та 0,02 мл цільної крові у пробірці. Число еритроцитів на 1 мкл крові розраховували за формулою:

$$E = \frac{a \times 4000 \times 200}{80}, \text{ де}$$

E – число еритроцитів на 1 мкл крові;

a – число еритроцитів у 80-ти малих квадратах камери Горяєва;

80 – кількість малих квадратів у яких проводився підрахунок;

200 – ступінь розведення цільної крові;

4000 – коефіцієнт для перерахунку отриманого результату на об'єм 1 мкл цільної крові (зважаючи на те, що об'єм малого квадрата камери становить 1/4000 мкл);

Підрахунок кількості еритроцитів (в 1-му мкл цільної крові) проводили в 80-ти малих квадратах, а вихідний результат домножували на 10000 у зв'язку з первинним розведенням (1:200).

Число еритроцитів подавали на 1л крові та подавали у форматі  $10^{12}/л$  (одиниці SI).

#### **2.4.15. Підрахунок кількості лейкоцитів [325].**

Підрахунок лейкоцитів проводили за допомогою камери Горяєва та світлового мікроскопа (мале збільшення: окуляр – 10х/15х; об'єктив – 8х) у затемненому полі зору (опущений конденсор / вузька щілина діафрагми). У дослідну пробу з 0,02 мл цільної крові вносили 0,02 мл 3% розчину оцтової кислоти, підфарбованого метиленовим зеленим, закручували корком та ретельно перемішували. Число лейкоцитів у 100 великих квадратах (1600 малих) камери Горяєва розраховували за формулою:

$$L = \frac{a \times 4000 \times 20}{1600}, \text{ де}$$

L – число лейкоцитів на 1 мкл крові;

a – число лейкоцитів у 100-ти великих квадратів камери Горяєва;

20 – ступінь розведення цільної крові;

4000 – коефіцієнт для перерахунку отриманого результату на об'єм 1 мкл цільної крові (зважаючи на те, що об'єм малого квадрата камери становить 1/4000 мкл);

1600 –кількість малих квадратів у яких проводився підрахунок;

Підрахунок кількості лейкоцитів (в 1-му мкл цільної крові) проводили в 100 великих (1600 малих) квадратах.

Число лейкоцитів представляли на 1л крові та подавали у форматі г/л (одиниці SI).

#### **2.4.16. Визначення концентрації гемоглобіну у крові [325].**

Визначення концентрації гемоглобіну крові проводили за гемоглобін-ціанідним методом. Принцип методу базується на хімічній реакції взаємодії гемоглобіну з червоною кров'яною сіллю ( $K_3Fe(CN)_6$ ), в результаті якої окиснений гемоглобін (метгемоглобін) формує забарвлений комплекс (гемоглобін-ціанід) з ацетонангідридом. Екстинкція гемоглобінціаніду при  $\lambda$  540 нм відображає концентрацію гемоглобіну у пробі.

Концентрацію гемоглобіну у пробі розраховували за формулою:

$$Hb = \frac{E_{540} \times 64.458 \times 251}{44}, \text{ де}$$

$E_{540}$  – екстинкція дослідної проби;

64,458 –мілімолярна маса гемоглобіну, г;

251 – ступінь розведення цільної крові;

44 – мілімолярний коефіцієнт екстинкції для розчину гемоглобін-ціаніду з концентрацією 1 ммоль/л, оптичній довжині шляху 1 см та  $\lambda=540$  нм;

Концентрацію гемоглобіну крові виражали у г/л (одиниці SI).

**2.4.17. Визначення амінотрансферазної активності у плазмі крові** (аланінамінотрансфераза – АлАТ: К.Ф. 2.6.1.2.; аспартатамінотрансфераза – АсАТ: К.Ф. 2.6.1.1.)

Продуктами процесів переамінування, які відбувається за участі амінотрансфераз, є  $C_2H_2O_4$  та  $C_3H_4O_3$ . Відповідні кінцеві продукти формують забарвлені комплекми-гідразони (рН>7) після взаємодії з

2,4 - динітрофенілгідразином. Екстинкцію реєстрували спектрофотометрично при  $\lambda$  500–560 нм.

Ензиматичну активність АЛАТ та АсАТ визначали згідно інструкції стандартизованих наборів "Simko LTD" (Україна, Львів). Оптичну густина вимірювали спектрофотометрично при  $\lambda$  560 нм спектрофотометрі "Unico" 1205 (USA). Активність амінотрансфераз визначали за допомогою калібрувальних кривих та виражали умовних одиницях на 1 л (ум. од./ л).

#### **2.4.18. Визначення вмісту креатиніну, сечовини та холестеролу у плазмі крові**

Визначення вмісту креатиніну, сечовини та холестеролу у плазмі крові проводили на біохімічному аналізаторі HUMALYZER 2000 (бренд HUMAN; автоматичний тип) з використанням наборів "Creatinine liquicolor (REF 10051)" (Німеччина, Вісбаден), "Urea liquicolor (REF 10505)" (Німеччина, Вісбаден), "Cholesterol liquicolor (REF 10017)" (Німеччина, Вісбаден). Концентрацію креатиніну, сечовини та холестеролу у плазмі виражали у мкмоль/л, ммоль/л та ммоль/л відповідно.

#### **2.4.19. Визначення лужно фосфатазної активності у плазмі крові (ЛФ: К.Ф. 3.1.3.1.)**

Активність ЛФ у плазмі крові вимірювали на біохімічному аналізаторі HUMALYZER 2000 (бренд HUMAN; автоматичний тип) з використанням набору "Alkaline Phosphatase liquicolor (REF 12117)" (Німеччина, Вісбаден) та виражали в умовних одиницях на 1 л (ум. од./л).

#### **2.4.20. Визначення вмісту Хрому в печінці щурів [309].**

Визначення вмісту Хрому у печінці щурів проводили методом атомної адсорбції з електротермічною атомізацією на атомно-абсорбційному спектрометрі Varian AA240Z з спектральним діапазоном 185–900 нм. Відповідний метод базується на поглинанні електромагнітного випромінювання вільними атомами, які перебувають у незбудженому стані. Зразки печінки щурів попередньо висушували в

сушильній шафі протягом 2 годин при температурі 80°C. Висушені зразки піддавали сухому озоленню шляхом спалювання у муфельній печі. Після цього проводили кислотну екстракцію отриманої золи шляхом додавання 3N HCl.

Дослідний зразок розпилювали у полум'ї атомізатора, внаслідок чого утворювалася холодна атомна пара. Через атомну пару пропускали світлові промені з резонансною частотою досліджуваного хімічного елемента (Хрому). Частина світлових променів поглиналася електронами зовнішнього енергетичного рівня відповідних атомів. За допомогою детектора (фото помножувач RS955) реєстрували зміну інтенсивності світлового потоку після проходження через холодну атомну пару. Інтенсивність поглинання світлових променів прямо пропорційна вмісту досліджуваного хімічного елемента у полум'ї атомізатора. За допомогою комп'ютерного алгоритму проводився перерахунок даних про зміну інтенсивності світлового потоку у показники концентрації відповідного хімічного елемента у дослідній пробі.

## **2.5. Статистична обробка даних**

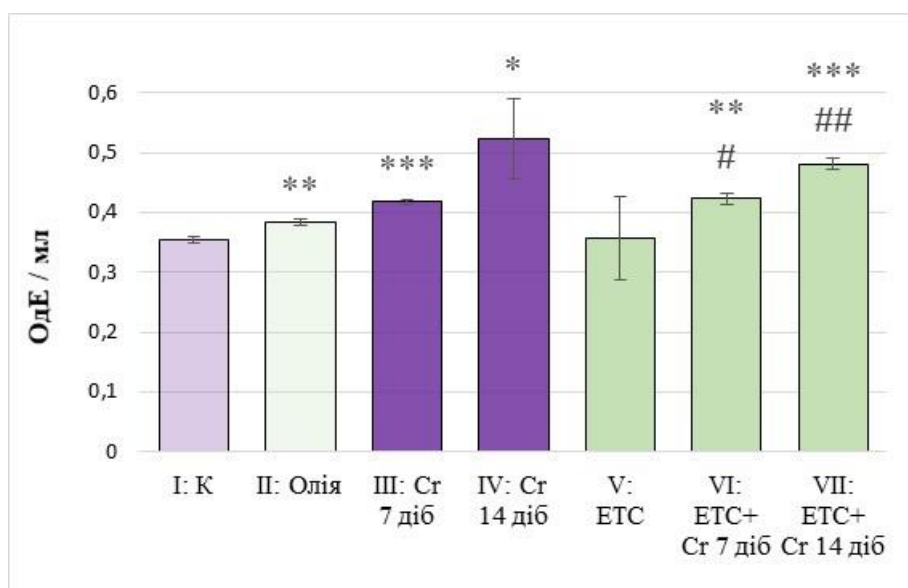
Статистичне опрацювання результатів досліджень проводили за допомогою методу ANOVA. Статистично достовірні зміни між групових показників оцінювали за критерієм Tukey's post hoc test. Отримані цифрові значення показників подавали у вигляді середнього арифметичного значення (M) та стандартного відхилення (m). Міжгрупову різницю показників вважали статистично значущою при  $P \leq 0,05$ . Арифметичну та статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програмного пакету Microsoft Excel 2016–2019.

## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Вплив етилтіосульфанілату на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI)

#### 3.1.1. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на стан про/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності

ПОЛ – це процеси окисної модифікації ненасичених жирних кислот у складі молекул ліпідів за участі вільних радикалів та АФО. Надмірна активація процесів ПОЛ у біологічних системах спричиняє підвищення рівня ГПЛ та реакційноздатних альдегідів, які є токсичними для клітин та тканин організму [234]. В результаті проведених досліджень нами встановлено достовірне зростання вмісту ГПЛ у плазмі крові тварин за умов внутрішньоочеревинної токсичної дії Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб на 18 та 48% відповідно щодо показників контролю (рис. 3.1). Відомо, що Cr(VI) стимулює процеси генерації  $\text{OH}^\cdot$ , які окиснюють ліпіди та трансформують відповідні молекули у ГПЛ [113].

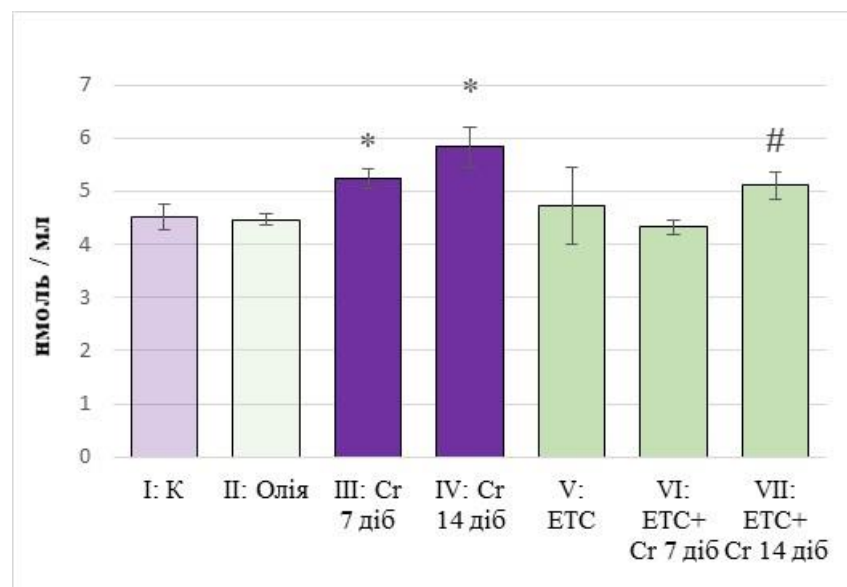


**Рис. 3.1.** Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ETC ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

*Примітка:* статистично достовірні різниці показників II, III, IV, V, VI, VII груп щодо показників I групи (контролю): \*—\*\*\* —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; статистично достовірні різниці показників V, VI, VII груп стосовно II групи: #—### —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ .

Попередній внутрішньошлунковий 14-ти добовий вплив ЕТС за наступної токсичної дії Cr(VI) впродовж 7 і 14 діб супроводжувався достовірним зростанням вмісту ГПЛ у плазмі крові щурів на 10 та 25% відповідно щодо показників у II групі (рис. 3.1). Проте, підвищення концентрації ГПЛ крові тварин VI групи (10%) у порівнянні з II групою було на 8% нижчим, ніж зростання рівня ГПЛ у плазмі крові щурів III групи (18%) щодо I групи. Аналогічно, інтенсивність підвищення концентрації ГПЛ у крові тварин VII групи у порівнянні з II групою (25%) була на 23% нижчою, ніж інтенсивність зростання вмісту ГПЛ у плазмі крові щурів IV (48%) групи щодо показників I групи.

Вміст ТБК-активних продуктів достовірно збільшувався після 7-ми та 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) на 16 та 29 % відповідно щодо контролю (рис. 3.2), внаслідок прооксидантного ефекту Cr(VI) та гіперпродукції ГПЛ [308]. ТБК-активні продукти є кінцевими молекулами трансформації ГПЛ, які посилено генеруються у відповідь на Cr(VI)-індуковану токсичність та спричиняють мутагенний ефект за підвищених концентрацій [179; 257].

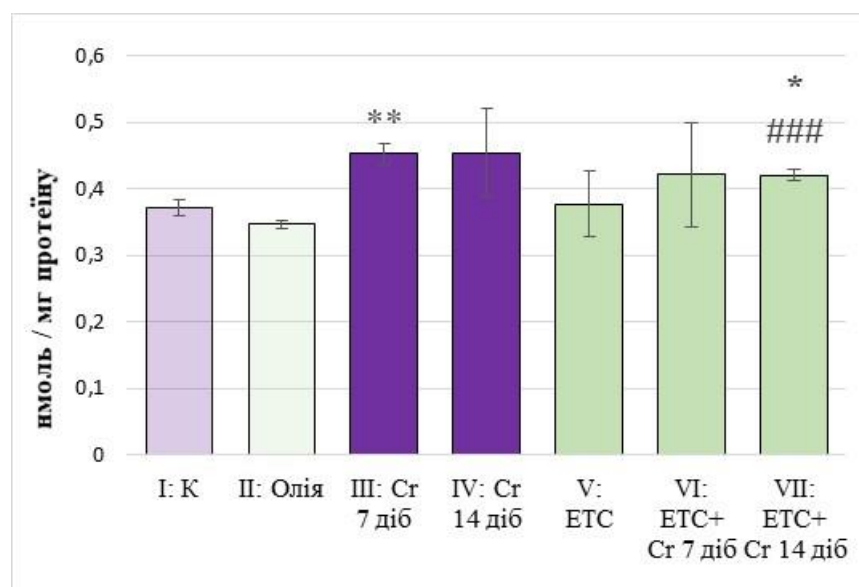


**Рис. 3.2.** Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

Попередня дія ЕТС за наступного 14-ти добового токсичного впливу Cr(VI) призводила до достовірного зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 15% у плазмі крові тварин VII групи у порівнянні з показниками тварин II групи (рис. 3.2).

Проте, зростання концентрації ТБК-активних продуктів у крові щурів VII групи (15%) у порівнянні з II групою було удвічі нижчим, ніж підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів IV групи (29%) щодо I групи, що може бути наслідком антирадикальних властивостей ЕТС [162].

Cr(VI)-індукована токсичність на протязі 7-ми діб призводила до достовірного зростання концентрації КГП у плазмі крові тварин III групи на 22% порівняно з I групою (рис. 3.3), що пояснюється окисненням карбоксильних груп бічних ланцюгів амінокислот з наступним формуванням КГП [69]. Попередній вплив ЕТС за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) супроводжувався достовірним підвищенням рівня КГП у плазмі крові щурів VII групи на 21% порівняно з показниками II групи (рис. 3.3).



**Рис. 3.3.** Вміст карбонільних груп протеїнів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

СОД та КАТ, це базові ензими системи АОЗ, які забезпечують процеси дисмутації високореакційноздатних радикалів  $O_2^-$  та  $H_2O_2$  відповідно до нерадикальних продуктів  $H_2O$  та  $O_2$ . Cr(VI) у присутності ВГ стимулює процеси формування  $O_2^-$  та  $H_2O_2$ , що може бути причиною стимуляції відповідних ензимів [78]. Отримані нами результати досліджень свідчать про достовірну гіперактивацію СОД та КАТ у еритроцитах щурів за 7-ми добової інтоксикації Cr(VI) на 153 та 75% відповідно щодо показників у контролі (табл. 3.1). Cr(VI)-індукована токсичність



протягом 14-ти діб супроводжувалася достовірним підвищенням активності СОД та КАТ у крові тварин на 25 та 23% відповідно порівняно з контролем. Можна припустити, що зниження рівня гіперактивації СОД в еритроцитах щурів за більш тривалого 14-ти добового токсичного впливу  $K_2Cr_2O_7$  може бути пов'язана з тим, що збільшення концентрації Cr(VI) супроводжується гіперпродукцією  $O_2^-$  та АФО, які пошкоджують молекулярну структуру СОД. В результаті цього активність відповідного ензиму знижуються відповідно до збільшення тривалості токсичного впливу Cr(VI) [181].

Таблиця 3.1

**Супероксиддисмутаза та каталазна активність в еритроцитах крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /хв×мг протеїну
I – контроль	1,96±0,12	4,39±0,1
II – олія	2,77±0,07 ***	5,46±0,59
III – Cr 7 діб	4,95±0,75**	7,7±0,38 ***
IV – Cr 14 діб	2,44±0,12*	5,39±0,12 ***
V – ЕТС	2,16±0,52	5,98±0,49 *
VI – ЕТС + Cr 7 діб	2,71±0,92	3,48±0,15 *** #
VII – ЕТС + Cr 14 діб	3,01±0,07*** #	3,71±0,1** #

*Примітка:* статистично достовірні різниці показників II, III, IV, V, VI, VII груп щодо показників I групи (контролю): \*—\*\*\* —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; статистично достовірні різниці показників V, VI, VII груп стосовно II групи: #—### —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ .

Активність СОД достовірно зростала на 9% в еритроцитах щурів за попереднього впливу ЕТС та наступної 14-ти добової Cr(VI)-індукованої токсичності у порівнянні з II групою. Проте, інтенсивність активації СОД у еритроцитах щурів VII групи (9%) у порівнянні з II групою була на 16% нижчою, ніж відсоток зростання активності СОД у крові тварин IV групи (25%) порівняно з I групою. Попередній вплив ЕТС за наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми та 14-діб призводив до достовірного зниження активності КАТ на 36 та 32% відповідно щодо показників II групи, що

свідчить про зниження навантаження на СОД та КАТ за умов інтоксикації Cr(VI) шляхом компенсаторної нейтралізації  $O_2^-$  та  $H_2O_2$  у присутності ЕТС [169].

Ензими глутатіонової ланки АОЗ забезпечують процеси нейтралізації  $H_2O_2$ , ГПЛ та відновлення ВГ з його окисненої форми – дисульфід глутатіону (ОГ) [267]. Встановлено достовірне підвищення активності ГП, ГР та вмісту ВГ за умов 7-ми добової Cr(VI)-індукованої інтоксикації в еритроцитах на 27, 9 та 15% відповідно щодо показників контролю (табл. 3.2), що може свідчити про компенсаторну активації глутатіонової ланки АОЗ еритроцитів у присутності  $H_2O_2$  та Cr(VI) [143; 267; 308]. Проте, 14-ти добова Cr(VI)-індукована токсичність призводила до достовірного зниження активності ГП та вмісту ВГ у крові тварин на 47 та 44% відповідно у порівнянні з показниками контролю. Відомо, що більш тривалий вплив високих концентрації  $H_2O_2$  спричиняє інгібування активності ГП та виснаження запасів ВГ [197; 230] за умов тривалішої інтоксикації Cr(VI) [4].

Таблиця 3.2

**Показники глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в еритроцитах щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	Глутатіонпероксидаза, нмоль ВГ/хв×мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН/хв×мг протеїну	Відновлений глутатіон, ммоль/л
I – контроль	18,53±1,28	3,49±0,10	0,91±0,043
II – олія	18,03±1,83	2,3±0,17 ***	0,75±0,014 **
III – Cr 7 діб	23,5±1,21*	3,8±0,08*	1,05±0,035*
IV – Cr 14 діб	9,73±0,5***	3,27±0,37	0,51±0,16*
V – ЕТС	19,18±1,31	2,8±0,09 *** #	0,94±0,034 ###
VI – ЕТС + Cr 7 діб	22,14±2,66	2,92±0,2* #	0,88±0,031 ##
VII – ЕТС + Cr 14 діб	16,72±2,01	2,95±0,05** ##	1,56±0,039*** ##

Дія ЕТС окремо та за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб призводила до достовірної активації ГР у крові тварин на 22, 27 та 28% відповідно щодо показників II групи. Вміст ВГ достовірно підвищувався в еритроцитах щурів V,

VI та VII дослідних груп на 25, 17 та 108% відповідно у порівнянні з показниками II групи, що може свідчити про біотрансформаційні процеси молекул ЕТС з наступним формуванням сульфуроорганічних попередників для біосинтезу ВГ *de novo* [162].

Печінка є основним органом, який забезпечує процеси метаболізму ліпідів, вуглеводів, протеїнів, вітамінів, гормонів, а також здійснює процеси знешкодження токсинів та ксенобіотиків. Cr(VI) з кровотоком потрапляє у гепатоцити, спричиняючи ушкодження та апоптоз відповідних клітин шляхом активації процесів ПОЛ та накопичення АФО [295]. Результати досліджень свідчать про достовірне зростання рівня ГПЛ у тканині печінки щурів як за 7-ми, так і за 14-ти добового токсичного впливу Cr(VI) на 50 і 158% відповідно щодо показників контролю (табл. 3.3). Попередній вплив ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14 діб супроводжувався достовірним підвищенням вмісту ГПЛ у тканині печінки тварин на 74% у порівнянні з II групою. Проте, відсоток зростання концентрації ГПЛ у тканині печінці щурів VII групи (74%) у порівнянні з II групою був на 84% нижчим, ніж відсоток підвищення рівня ГПЛ у печінці тварин IV групи (158%) у порівнянні з I групою.

Не було виявлено статистично достовірних змін рівня ТБК-активних продуктів у жодній із дослідних груп тварин. Ми спостерігали лише тенденцію до підвищення рівня ТБК-активних продуктів у тканині печінки щурів за умов інтоксикації Cr(VI).

Дія Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувалася достовірним зростанням рівня КГП у тканині печінки щурів IV групи на 49% щодо показників контролю. Спостерігалася тенденція до підвищення рівня КГП у гомогенатах печінки щурів VII групи, які отримували ЕТС попередньо до 14-ти добової Cr(VI)-індукованої інтоксикації.

Нирки забезпечують процеси фільтрації крові, виведення кінцевих продуктів метаболізму, регулюють тиск крові, водно-сольовий та Ca<sup>2+</sup> обмін. Cr(VI) виводиться саме через нирки, що сприяє значній акумуляції останнього у клітинах відповідного органу. Нефротоксичний ефект Cr(VI) супроводжується оксидативним стресом, запаленням, зростанням концентрації ГПЛ у нирках з наступним ушкодженням ниркових каналців та клубочків [58; 305]. Рівень ГПЛ достовірно зростав у тканині

нирок тварин після 7-ми та 14-ти добової токсичної дії Cr(VI) на 48 та 57% відповідно щодо показників контролю (табл. 3.3). За попереднього впливу ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7 діб ми спостерігали тенденцію до відновлення рівня ГПЛ у тканині нирок до рівня показників у II групі. Достовірне зростання рівня ГПЛ на 22% спостерігалось за дії ЕТС та наступного 14-ти добового токсичного впливу Cr(VI) у тканині нирок щурів у порівнянні з II групою. Проте, відсоткове підвищення рівня ГПЛ у нирках щурів VII групи (22%) у порівнянні з II групою було на 35% нижчим, ніж рівень ГПЛ у тканині нирок щурів IV групи (57%) щодо I групи. Відомо, що до складу молекули ЕТС входить сульфоефірна група [167], яка конвертує ГПЛ до нерадикальних молекул [17], що може бути причиною інгібування процесів ПОЛ у тканині нирок.

Токсична дія Cr(VI) протягом 14-ти діб призводила до достовірного підвищення вмісту ТБК-активних продуктів на 23% у тканині нирок щурів у порівнянні з контролем. Також ми спостерігали тенденцію до відновлення вмісту ТБК-активних продуктів у тканині нирок щурів VII групи до рівня показників у II групі.

Вміст КГП достовірно підвищувався після 7-ми та 14-ти добової Cr(VI)-індукованої токсичності у тканині нирок тварин на 62 та 97% відповідно щодо показників контролю, що може свідчити про окисну модифікацію структурних, функціональних протеїнів та ензимів [91]. Попередній вплив ЕТС за наступної токсичної дії Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувався достовірним зростанням концентрації КГП у нирках щурів на 40% щодо показників II групи. Проте, підвищення концентрації КГП у тканині нирок щурів VII групи (40%) у порівнянні з II групою була на 57% нижчою, ніж інтенсивність зростання рівня КГП у нирках тварин IV групи (97%) у порівнянні з I групою. Природні сульфуроорганічні сполуки та аналоги тіосульфонатів інгібують продукцію АФО шляхом пригнічення активності ксантин-ксантинооксидазної системи [131; 204], що може бути причиною зниження рівня КГП у нирках Cr(VI)-інтоксикованих щурів за дії ЕТС. Також спостерігалась тенденція до відновлення рівня КГП у тканині нирок тварин VI групи до значень II групи.

**Показники пероксидного окиснення ліпідів та протеїнів у тканинах печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Показники Групи тварин	Гідропероксиди ліпідів, ОдЕ/г тканини	ТБК-активні продукти, нмоль/г тканини	Карбонільні групи протеїнів, нмоль/мг протеїну
<b>Печінка</b>			
I – контроль	0,24±0,01	4,88±0,24	0,85±0,07
II – олія	0,23±0,02	4,91±0,06	0,80±0,02
III – Cr 7 діб	0,36±0,03*	5,70±0,21	0,90±0,08
IV – Cr 14 діб	0,63±0,07**	5,57±0,67	1,26±0,16 *
V – ЕТС	0,30±0,05	5,04±0,19	0,71±0,13
VI – ЕТС + Cr 7 діб	0,30±0,02	5,38±0,07	0,81±0,06
VII – ЕТС + Cr 14 діб	0,40±0,03 * #	5,31±0,22	1,04±0,08
<b>Нирки</b>			
I – контроль	0,23±0,004	6,29±0,31	0,39±0,09
II – олія	0,23±0,03	6,27±0,13	0,40±0,03
III – Cr 7 діб	0,34±0,02**	7,22±0,58	0,63±0,08***
IV – Cr 14 діб	0,36±0,005**	7,76±0,16*	0,77±0,07***
V – ЕТС	0,21±0,01	5,71±0,25	0,42±0,03
VI – ЕТС + Cr 7 діб	0,25±0,01	5,94±0,73	0,43±0,01
VII – ЕТС + Cr 14 діб	0,28±0,01* #	6,01±0,05	0,56±0,05* #

Дослідженнями були виявлені зміни системи АОЗ у тканинах щурів інтоксикованих Cr(VI) за впливу ЕТС. Відомо, що активність ензимів АОЗ та СОД зокрема змінюються у відповідь на  $K_2Cr_2O_7$ -індукований оксидативний стрес і характер відповідних змін залежить від особливостей конкретної тканини, дози Cr(VI), тривалості та способу інтоксикації [9; 267]. Отримані результати вказують на те, що токсична дія Cr(VI) протягом 14-ти діб призводила до достовірного зниження СОД активності у тканині печінки щурів на 22% щодо показників

у контролі (табл. 3.4), що очевидно зумовлено інактивацією ензиму у відповідь на Cr(VI)-індуковану гіперпродукцію  $H_2O_2$  [37; 181]. В усіх інших дослідних групах нами не виявлено статистично достовірних змін показників активності СОД у печінці тварин. Проте незначна тенденція до активації відповідного ензиму спостерігалася за дії ЕТС, зокрема у тканині печінки щурів V групи порівняно з II групою.

У тканині нирок тварин активність СОД достовірно зростала за 7-ми добової Cr(VI)-індукованої токсичності на 73% щодо показників контролю, що свідчить про компенсаторна регуляція генів відповідного ензиму у відповідь на Cr(VI)-індуковану гіперпродукцію  $O_2^-$  [78; 256]. Попередній вплив ЕТС за наступної 7-ми добової токсичної дії Cr(VI) призводив до достовірної активації СОД у тканині нирок щурів на 60% у порівнянні з показниками II групи. Проте, відсоток активації СОД у тканині нирок тварин VI групи (60%), у порівнянні з II групою, був лише на 13% нижчим, ніж інтенсивність активації відповідного ензиму у нирках щурів III групи (73%) щодо I групи.

Подібну динаміку активності КАТ ми спостерігали у печінці і нирках. Токсичний вплив Cr(VI) протягом 14-ти діб призводив до достовірного пригнічення активності КАТ у тканині печінки щурів на 14% у порівнянні з контролем (табл. 3.4). Однак спостерігалася тенденція до відновлення активності каталази за попередньої дії ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-діб у тканині печінки щурів відповідно до показників II групи. Проте, нами не зареєстровано достовірної різниці даних у цьому випадку. Дія ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми діб супроводжувалася достовірним зниження активності КАТ у печінці тварин на 20% щодо показників II групи, що може бути наслідком акумуляції ВГ у печінці щурів відповідної групи тварин. ВГ ефективно доповнює основну функцію каталази шляхом розкладання  $H_2O_2$  до  $H_2O$  та  $O_2$  [29; 229], що може бути причиною зниження КАТ активності за умов акумуляції ВГ.

Після 7-ми добової Cr(VI) інтоксикації КАТ активність нирок зростала на 32%, однак після 14-ти добової токсичності – знижувалася на 22% щодо контролю, що може свідчити про стимуляцію КАТ нирок у відповідь на Cr(VI)-індуковану генерацію  $H_2O_2$  [78] з подальшою інактивацією відповідного ензиму за умов

тривалішого накопичення  $H_2O_2$ , ГПЛ та виснаження пулу ВГ у нирках щурів [232]. У групах тварин, які отримували ЕТС окремо чи попередньо до Cr(VI) нами не виявлено статистично достовірних змін у показниках активності КАТ. Ми спостерігали лише тенденцію до відновлення активності каталази за попередньої дії ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-діб у тканині нирок тварин щодо показників II групи.

Таблиця 3.4

**Показники активності супероксиддисмутази та каталази у тканині печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Показники Групи тварин	Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /хв×мг протеїну
<b>Печінка</b>		
I – контроль	11,52±0,56	8,67±0,41
II – олія	9,89±0,64	8,82±0,16
III – Cr 7 діб	10,43±0,51	9,00±0,15
IV – Cr 14 діб	9,04±0,71*	7,44±0,31**
V – ЕТС	11,76±0,79	8,48±0,44
VI – ЕТС + Cr 7 діб	8,91±0,73	7,08±0,55 #
VII – ЕТС + Cr 14 діб	9,33±0,82	9,02±0,42
<b>Нирки</b>		
I – контроль	4,41±0,81	8,42±0,62
II – олія	3,99±0,51	9,21±0,68
III – Cr 7 діб	7,61±0,63*	11,12±0,84*
IV – Cr 14 діб	3,33±0,18	6,60±0,58*
V – ЕТС	4,79±0,72	10,59±0,49
VI – ЕТС + Cr 7 діб	6,37±0,53 #	10,3±0,18
VII – ЕТС + Cr 14 діб	3,77±0,27	9,7±1,52

Встановлені зміни показників глутатіонової ланки АОЗ у тканинах щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС. В результаті проведених досліджень виявлено тенденцію до активації ГП у тканині печінки щурів за токсичної дії Cr(VI) (III, IV група) та відновлення активності відповідного ензиму за умов попереднього впливу ЕТС (VI, VII група) (табл. 3.5). Проте, нами не спостерігалось статистично

достовірних змін показників активності ГП у тканині печінки щурів усіх дослідних груп.

У тканині нирок щурів 7-ми та 14-ти добова Cr(VI)-індукована токсичність призводила до достовірної гіперактивації ГП на 128 та 43% відповідно щодо показників контролю, що у свою чергу може бити захисним механізмом клітин у відповідь на оксидативний стрес. Отримані нами результати досліджень узгоджуються з літературними даними про те, що Cr(VI)-індуковане зростання рівня ГПЛ та  $H_2O_2$  у нирках є причиною активації ГП [143]. Нами не виявлено статистично достовірних змін у активності ниркової ГП у жодній із дослідних груп тварин, які отримували ЕТС. Ми спостерігали лише тенденцію до зниження інтенсивності гіперактивації ГП у тканині нирок щурів за попереднього впливу ЕТС та наступної токсичної дії Cr(VI) (VI, VII група).

Важливу функцію відновлення окисненої форми ОГ до ВГ виконує НАДФН-залежний ензим ГР. Зниження активності ГР супроводжується порушенням співвідношення ВГ/ОГ, що у своє чергу знижує здатність клітин протидіяти оксидативному стресу, інтоксикації та апоптозу [59]. Активність ГР достовірно знижувалася після 14-ти добової Cr(VI)-індукованої токсичності на 17% у тканині печінки щурів порівняно з контролем (табл. 3.5). Спостерігалася тенденція до активації ГР у печінці тварин за дії ЕТС окремо та за попереднього впливу ЕТС та наступної Cr(VI)-індукованої токсичності (VI, VII групи), однак ці зміни були не статистично достовірні.

Cr(VI)-індукована токсичність призводила до достовірного зниження активності ГР у тканині нирок як після 7-ми, так і після 14-ти добового періоду інтоксикації на 37 та 41% відповідно щодо показників у контролі, що свідчить про можливе виснаження пулу ВГ та НАДФН у нирках за умов інтоксикації Cr(VI). НАДФН-залежні ензими дуже чутливі до інтоксикації важкими металами та Cr(VI) зокрема [4]. Ми спостерігали лише тенденцію до відновлення активності ГР за умов впливу ЕТС у нирках тварин V, VI, VII груп.



**Показники глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у тканині  
печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Показники Групи тварин	Глутатіонпероксидаза, нмоль ВГ/хв×мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН/хв×мг протеїну	Відновлений глутатіон, ммоль/г
<b>Печінка</b>			
I – контроль	26,24±0,35	1,71±0,09	0,49±0,04
II – олія	26,64±0,38	1,69±0,03	0,54±0,07
III – Cr 7 діб	32,47±3,65	1,49±0,09	0,29±0,02*
IV – Cr 14 діб	32,61±0,42	1,42±0,08*	0,33±0,07*
V – ЕТС	27,16±2,39	2,07±0,16	0,99±0,04*** ##
VI – ЕТС + Cr 7 діб	27,27±3,47	1,72±0,12	1,02±0,12*** ##
VII – ЕТС + Cr 14 діб	28,69±0,77	2,03±0,12	1,29±0,15*** ##
<b>Нирки</b>			
I – контроль	52,6±1,27	3,13±0,39	0,43±0,06
II – олія	48,02±2,69	3,19±0,42	0,66±0,07*
III – Cr 7 діб	120,05±9,59**	1,96±0,09*	0,46±0,11
IV – Cr 14 діб	75,36±1,07*	1,87±0,28*	0,33±0,02*
V – ЕТС	65,68±9,92	3,05±0,32	0,9±0,05 ** #
VI – ЕТС + Cr 7 діб	91,77±16,82	2,78±0,21	0,92±0,09 ** #
VII – ЕТС + Cr 14 діб	66,08±15,21	2,12±0,27	0,91±0,07 ** #

ВГ є одним із найважливіших неензиматичних антиоксидантів, який забезпечує відновлення ГПЛ за участі ГП, а також нейтралізує АФО та вільні радикали [230]. Токсична дія Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб спричиняла достовірне виснаження запасів ВГ у тканині печінки тварин на 41 та 33% відповідно щодо показників контролю (табл. 3.5). Вміст ВГ достовірно знижувався у тканині нирок тварин після 14-ти добової токсичної дії Cr(VI) на 23% щодо показників контролю, що може бути

наслідком інтенсивної утилізації молекул ВГ у нирках щурів внаслідок відновлення ГПЛ, АФО та Cr(VI) [37; 230]. Проте, дія ЕТС окремо та за наступної 7-ми та 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) супроводжувалася достовірним підвищенням пулу ВГ у печінці щурів на 83, 89 та 139% відповідно у порівнянні із показниками II групи. Аналогічно, попередній вплив ЕТС окремо та за наступної 7-ми та 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) супроводжувався достовірним зростанням пулу ВГ у нирках щурів на 36, 39 та 38% відповідно порівняно з II групою. Відомо, що тіосульфати сприяють накопиченню тіолу  $H_2S$ , який стимулює процеси відновлення та синтезу ВГ [28], що може бути причиною акумуляції ВГ у печінці та нирках щурів інтоксикованих Cr(VI).

### **Підсумки до підпункту 3.1.1.**

1. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес спричиняв достовірну активацію процесів ПОЛ та окисної модифікації протеїнів у плазмі крові та тканинах щурів за обох періодів інтоксикації. Вплив ЕТС зумовлював достовірне зниження інтенсивності процесів ПОЛ за 7-ми та 14-ти добової дії Cr(VI), однак не сприяв стабілізації концентрації КГП плазми крові після 14-ти добової токсичності. ЕТС частково компенсував 14-ти добову токсичну дію Cr(VI) за рахунок достовірного зниження інтенсивності зростання вмісту ГПЛ в обох досліджуваних тканинах та КГП у тканині нирок.

2. СОД та КАТ у еритроцитах щурів достовірно активувалися після обох періодів інтоксикацію Cr(VI), однак попередній вплив ЕТС сприяв частковій стабілізації активності відповідних ензимів. Спостерігалася достовірна гіперактивація СОД та КАТ у нирках тварин після 7-ми добової дії Cr(VI) та достовірне пригнічення активності відповідних ензимів у печінці, КАТ у нирках щурів після 14-ти добової токсичності. Дія ЕТС частково компенсувала гіперактивацію СОД у нирках та сприяла достовірному зниженню активності КАТ у печінці щурів за умов 7-ми добової Cr(VI) токсичності.

3. Відзначено достовірну компенсаторну активацію глутатіонової ланки АОЗ у крові щурів за 7-ми добової дії Cr(VI) з наступною достовірною інактивацією після

14-ти добової токсичності. Вплив ЕТС запобігав Cr(VI)-індукованій інактивації глутатіонової ланки АОЗ за рахунок достовірної активації ГР та достовірного підвищення рівня ВГ у еритроцитах щурів. ГП нирок достовірно активувалася за обох періодів інтоксикації, проте активність ГР та вміст ВГ достовірно знижувалися у досліджуваних тканинах щурів за дії Cr(VI). ЕТС проявляв антиоксидантні властивості, сприяв достовірному підвищенню та запобігав Cr(VI)-індукованому виснаженню пулу ВГ в обох досліджуваних тканинах.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [140; 141; 323] та матеріалах конференцій [135; 137; 311; 315; 316; 321].

### **3.1.2. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на окремі показники ліпідного метаболізму у крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

Оксидативний стрес спричинений дією Cr(VI) супроводжується порушеннями активності регуляторів ліпідного обміну, окисним ушкодженням ліпідів за участі АФО, що у свою чергу спричиняє стан гіперліпідемії [152]. Надлишок ліпідів у крові тісно пов'язаний з розвитком атеросклерозу, гломерулосклерозу, прогресуючими та хронічними хворобами нирок [3]. Рівень загальних ліпідів і холестеролу у плазмі крові щурів достовірно зростав у відповідь на 7-ми та 14-ти добову Cr(VI) інтоксикацію на 27 та 45% (загальні ліпіди) і 29 та 35% (холестерол) відповідно щодо контролю (табл. 3.6), що свідчить про можливу гіперактивацію ензимів залучених у процесах анаболізму та акумуляції ліпідів у відповідь на оксидативний стрес [269]. Дія ЕТС окремо не спричиняла статистично достовірних змін у показниках вмісту загальних ліпідів плазми крові тварин. Попередній вплив ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувався достовірним підвищенням вмісту загальних ліпідів у плазмі крові тварин на 19% порівняно з II групою. Проте, інтенсивність підвищення вмісту загальних ліпідів у крові тварин VII групи (19%) у порівнянні з II групою була на 25% нижчою, ніж відсоток зростання загальних ліпідів у плазмі крові щурів IV групи (44%) щодо показників I групи, що може свідчити про інгібування процесів акумуляції ліпідів внаслідок стимуляції сигнального шляху

рецептора- $\alpha$  активованого проліфератором пероксисом (PPAR $\alpha$ ) та пригнічення PPAR $\gamma$  [52].

Таблиця 3.6

**Показники вмісту загальних ліпідів та холестеролу у крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M $\pm$ m, n=5)**

Групи тварин	Загальні ліпіди, г/л	Загальний холестерол, ммоль/л
I – контроль	9,11 $\pm$ 0,25	1,97 $\pm$ 0,15
II – олія	10,0 $\pm$ 0,41	2,06 $\pm$ 0,08
III – Cr 7 діб	11,63 $\pm$ 0,23 ***	2,55 $\pm$ 0,08 *
IV – Cr 14 діб	13,07 $\pm$ 0,53 ***	2,66 $\pm$ 0,16 *
V – ЕТС	9,86 $\pm$ 0,17	2,04 $\pm$ 0,09
VI – ЕТС + Cr 7 діб	10,13 $\pm$ 0,48	2,18 $\pm$ 0,07
VII – ЕТС + Cr 14 діб	11,87 $\pm$ 0,13 *** #	2,43 $\pm$ 0,10 * #

Вміст загального холестеролу достовірно підвищувався у крові тварин за попереднього введення ЕТС та наступного 14-ти добового Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу на 18% щодо показників II групи. Проте, відсоток підвищення рівня холестеролу в крові тварин VII групи (18%) щодо показників II групи був удвічі нижчим, ніж відсоток зростання концентрації загального холестеролу в плазмі крові щурів IV групи (35%) порівняно з I групою. Джерела літератури описують гіпохолестеримічний ефект тіосульфонатів у плазмі крові, причиною якого може бути регуляція ензимів холестеринового обміну [218].

У результаті дослідження вмісту окремих фракцій ліпідів плазми крові щурів нами виявлено статистично достовірне зниження вмісту неестерифікованого холестеролу після 7 і 14 добового оксидативного стресу спричиненого дією Cr(VI) на 13 і 16% відповідно щодо показників контролю (табл. 3.7), що може свідчити про компенсаторне використання холестеролу крові з метою компенсації Cr(VI)-індукованих ушкоджень ліпідних компонентів клітинних мембран [86]. Попередня дія ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб призводила до достовірного зниження концентрації неестерифікованого холестеролу у крові щурів на 17 і 10% відповідно порівняно з II групою.

**Показники відсоткового вмісту окремих класів ліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин Клас ліпідів, %	I – контроль	II – оля	III – Cr 7 діб	IV – Cr 14 діб	V – ЕТС	VI – ЕТС + Cr 7 діб	VII – ЕТС + Cr 14 діб
Фосфоліпіди	26,35± 1,60	25,99± 1,55	23,58± 1,50	25,93± 1,60	25,55 ± 3,99	26,43± 0,67	26,55± 0,40
Моно- диацилгліцероли	17,32± 0,56	16,90± 1,26	16,55± 1,25	16,64± 0,36	15,53 ± 0,34	16,03 ± 0,96	15,85± 0,73
Неестерифіковані жирні кислоти	8,09 ± 0,27	10,52± 0,78	7,07± 1,30	9,54± 1,68	13,03 ± 0,08	12,18 ± 1,56	9,21 ± 0,20
Неестерифікований холестерол	15,01± 0,25	15,37± 0,39	13,04± 0,78 *	12,54± 0,73 *	14,93 ± 0,35	12,8± 0,47 * #	13,82± 0,52 #
Триацилгліцероли	15,05± 0,46	14,57± 0,63	19,72± 0,88*	17,83± 1,34*	13,97± 1,91	14,58 ± 1,06	18,57± 0,55 * ##
Естерифікований холестерол	18,19± 1,54	16,89± 1,54	20,02± 1,01	17,53± 0,40	16,99± 2,41	17,97± 0,48	16,01± 0,60

Гіпертригліцеридемія є однією з найпоширеніших клінічних аномалій ліпідного обміну, яка підвищує ризик панкреатиту, нефриту, серцево-судинних захворювань [94]. Вміст триацилгліцеролів достовірно підвищувався за умов 7 і 14 добової інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  у крові тварин на 31 і 18% відповідно щодо показників у контролі, що свідчить про стимуляцію транскрипції ліпогенних генів та накопичення триацилгліцеролів за дії Cr(VI) [152]. Попередній вплив ЕТС за наступної токсичної дії Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувався достовірним підвищенням концентрації триацилгліцеролів у плазмі крові щурів на 27% щодо показників II групи. За попереднього впливу ЕТС та наступної 7-ми добової Cr(VI) інтоксикації спостерігали тенденцію до відновлення вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові тварин відповідно до показників II групи.

Фосфоліпіди виконують важливу структурну, бар'єрну, транспортну та сигнальну функції у клітинах, оскільки є одними із найпоширеніших структурних компонентів біологічних мембран [133]. Аналіз відсоткового вмісту окремих класів фосфоліпідів виявив статистично достовірне підвищення рівня фосфатидної кислоти (ФК) на 42% за умов 7-ми добової Cr(VI)-індукованої токсичності у плазмі крові тварин порівняно з контролем (табл. 3.8), що може бути зумовлено активацією фосфоліпази D з наступним розщепленням фосфатидилхоліну до фосфатидної кислоти [98]. За попереднього впливу ЕТС та наступної Cr(VI)-індукованої інтоксикації (VI, VII групи) ми спостерігали тенденцію до відновлення вмісту ФК у плазмі щурів до рівня показників II групи.

Токсичний вплив  $K_2Cr_2O_7$  впродовж 7 діб супроводжувалася достовірним зниженням вмісту фосфатидилетаноламіну у крові тварин на 17% порівняно з I групою, що свідчить про стимуляцію процесів окиснення поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) [164]. Вплив ЕТС окремо та за наступної 14-ти добової токсичної дії Cr(VI) супроводжувався достовірним збільшенням вмісту фосфатидилетаноламіну у крові щурів на 23 та 20% відповідно порівняно з показниками II групи, що може бути зумовлено стимуляцією процесів декарбоксилювання фосфатидилсерину до фосфатидилетаноламіну [167]. Ми спостерігали тенденцію до відновлення вмісту фосфатидилетаноламіну у плазмі крові тварин за попереднього впливу ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми діб до значень у II групі.

**Показники відсоткового вмісту окремих класів фосфоліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин Клас фосфоліпідів, %	I – контроль	II – олія	III – Cr 7 діб	IV – Cr 14 діб	V – ЕТС	VI – ЕТС + Cr 7 діб	VII – ЕТС + Cr 14 діб
Фосфатидна кислота, %	8,58± 0,53	8,16± 0,74	12,47± 0,86 *	9,61± 0,31	6,77± 0,62 *	7,9± 0,79	8,4± 0,24
Фосфатидил- етаноламін, %	20,06± 1,14	19,88± 0,81	16,71± 0,80 *	21,18± 0,85	24,51± 0,44 * #	19,50± 0,11	23,84± 0,58 * #
Фосфатидил- інозитол, %	11,01± 0,66	12,39± 0,56	11,30± 0,63	11,32± 0,60	13,60± 0,69	14,18± 0,48	9,04± 0,51
Фосфатидил- холін, %	35,04± 0,78	33,68± 0,49	32,68± 1,34	34,38± 0,28	31,06± 0,90 * #	31,48± 0,73 *	34,69± 0,39
Фосфатидил- серин, %	8,57± 0,42	8,88± 0,67	9,08± 0,25	7,63± 0,65	7,80± 0,40	6,99± 0,49	7,62± 0,23
Сфінгомієлін, %	7,72± 0,33	8,99± 0,21	9,06± 0,72 *	7,45± 0,58	8,31± 0,33	12,32± 1,02 * #	7,26± 0,46 #
Лізофосфатидил- холін, %	9,03± 0,35	8,02± 0,29	8,70± 0,37	8,44± 0,66	7,96± 0,43	7,64± 0,21	9,17± 0,27

Встановлено незначне, проте достовірне зниження вмісту фосфатидилхоліну за дії ЕТС (на 8%) у плазмі крові тварин щодо показників II групи, що може бути наслідком інгібування процесів ензиматичної трансформації фосфатидилхоліну з фосфатидилетаноламіну на фоні підвищення вмісту останнього за дії ЕТС. В усіх інших дослідних групах нами не виявлено істотних змін у фракції фосфатидилхоліну крові щурів.

Токсичний вплив Cr(VI) протягом 7-ми діб призводив до достовірного зростання вмісту фракції сфінгомієліну в плазмі щурів на 17% у порівнянні з контролем. Відомо, що короткотривалий вплив важких металів супроводжується дисбалансом метаболітів плазми крові внаслідок порушення прооксидантного

статусу з наступним підвищенням рівня сфінгомієліну [121; 157]. Після 14-ти добової Cr(VI) інтоксикації ми не спостерігали достовірних змін вмісту сфінгомієліну відповідно до значень I групи. Попереднє введення ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми діб призводило до достовірного підвищення вмісту сфінгомієліну у крові тварин на 37% щодо показників II групи. Проте, попередня дія ЕТС за умов наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) супроводжувалася достовірним зниженням вмісту сфінгомієліну у плазмі крові щурів на 19% порівняно з II групою, що може бути зумовлено активацією сфінгомієлінази у мембранах еритроцитів та гепатоцитів внаслідок тривалої дії важкого металу [11].

### **Підсумки до підрозділу 3.1.2.**

1. Отримані результати досліджень вказують на те, що 7-ми та 14-ти добовий Cr(VI)-індукований оксидативний стрес характеризується гіперліпідимічним ефектом за рахунок достовірного підвищення рівня загальних ліпідів та холестеролу у крові тварин. ЕТС виконував стабілізуючу дію за рахунок достовірного зниження рівня гіперліпідимії за умов 14-ти добової токсичної дії Cr(VI).

2. Інтоксикація Cr(VI) призводила до порушень відсоткового співвідношення класів ліпідів за рахунок достовірного підвищення вмісту триацилгліцеролів та достовірного зниження неестерифікованого холестеролу у плазмі крові тварин за обох періодів інтоксикації. Попередній вплив ЕТС у досліджуваній дозі не достатній для стабілізації Cr(VI)-індукованих порушень у розподілі класів ліпідів крові.

3. Обидві досліджувані сполуки спричиняли перерозподіл у певних класах фосфоліпідів плазми крові щурів. Зокрема, токсична дія Cr(VI) протягом 7-ми діб призводила до вірогідного підвищення вмісту ФК, сфінгомієліну та достовірного зниження фракції фосфатидилетаноламіну. ЕТС протидіяв Cr(VI)-індукованому зниженню вмісту фосфатидилетаноламіну та спричиняв достовірне підвищення вмісту відповідної фракції фосфоліпідів. Дія ЕТС окремо призводила до незначного, проте достовірного зниження вмісту фосфатидилхоліну у плазмі крові щурів.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [322] та матеріалах конференцій [313].



### **3.1.3. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на гематологічні параметри крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

Гемоглобін – це Fe-вмісний тетрамерний протеїн, який входить до складу еритроцитів та виконує функцію транспортування  $O_2$  до клітин [93; 198]. Встановлено, що Cr(VI)-індукований оксидативний стрес протягом 7-ми та 14-ти діб спричиняв достовірне зниження концентрації гемоглобіну на 19 та 23% відповідно стосовно показників контролю (табл. 3.9), що може бути пов'язано з пригнічення процесів синтезу гему за інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  [221]. В усіх дослідних групах, які отримували ЕТС (V, VI, VII групи), нами не зареєстровано статистично достовірних змін вмісту гемоглобіну щодо показників II групи.

Кількість еритроцитів достовірно знижувалася за умов інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб на 15 та 27% відповідно щодо контролю, що може свідчити про активацію процесів еритролізу шляхом індукції ПОЛ, виснаження пулу АТФ, та порушення  $Ca^{2+}$ -сигналізації у еритроцитах [221]. Попередній вплив ЕТС за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) супроводжувався достовірним зниженням числа еритроцитів на 15% у порівнянні з II групою. Проте, відсоток зменшення кількості еритроцитів у крові щурів VII групи (15%) у порівнянні з II групою був майже удвічі нижчим, ніж відсоткове зниження числа еритроцитів у крові тварин IV групи (27%) у порівнянні з I групою. Можливо саме антиоксидантний ефект ЕТС, який полягає в акумуляції внутрішньоклітинного ВГ [162], сприяє підвищенню стійкості еритроцитів шляхом інгібування Cr(VI)-індукованих процесів ПОЛ [37]. Нами спостерігалася тенденція до відновлення кількості еритроцитів за попереднього впливу ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми діб відповідно до значень у II групі.

**Гематологічні показники крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС  
( $M \pm m$ , n=5)**

Групи тварин	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, $10^{12}/л$	Лейкоцити, г/л
I – контроль	124,16±2,56	8,58±0,46	9,91±0,57
II – олія	117,74±6,39	8,73±0,20	10,65±1,17
III – Cr 7 діб	101,11±2,68 *	7,26±0,58 *	8,88±0,97
IV – Cr 14 діб	95,85±5,96 *	6,27±0,37 *	7,92±0,62
V – ЕТС	121,88±9,41	9,38±0,25	10,97±0,52
VI – ЕТС + Cr 7 діб	128,41±3,90	8,61±0,29	11,53±0,98
VII – ЕТС + Cr 14 діб	104,52±1,76	7,41±0,37 * #	11,23±0,97

При порівнянні кількості лейкоцитів у крові тварин не виявило статистично достовірної різниці між показниками усіх дослідних груп. Спостерігалася лише тенденція до зниження кількості лейкоцитів крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI) та тенденція до відновлення числа лейкоцитів за попереднього впливу ЕТС та наступної токсичної дії Cr(VI).

**Підсумки до підрозділу 3.1.3.**

1. Токсична дія Cr(VI) супроводжувалася достовірним зниженням вмісту гемоглобіну та числа еритроцитів у крові щурів після обох періодів інтоксикації.

2. Попередній вплив ЕТС частково компенсував 14-ти добову Cr(VI)-індуковану токсичність за рахунок нормалізації кількості еритроцитів.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті та матеріалах конференцій [136; 321].

### **3.1.4. Вплив етилтіосульфанілату у дозі 100 мг/кг маси тіла на окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

Для кращого розуміння механізмів, які відбуваються в організмі тварин за дії досліджуваних нами чинників стратегічне значення має визначення показників протеїнового обміну і як його невід'ємної складової, активність процесів переамінування, які відбуваються за участі амінотрансфераз.

АлАТ та АсАТ (аланін- та аспартат амінотрансферази) – це основна група ензимів, які каталізують реакцій трансамінування аміно- та кетокислот та локалізуються переважно в печінці та тканинах деяких інших органів. Підвищення активності АлАТ, АсАТ у плазмі крові вказує переважно на ушкодження гепатоцитів, кардіоміоцитів та спостерігається за умов інтоксикації та патологічних станів організму [306]. Активність АлАТ достовірно зростала в плазмі крові щурів у результаті інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб на 94 і 115% відповідно щодо показників у контролі (табл. 3.10). Ми спостерігали достовірну активацію АсАТ у крові щурів аналогічних дослідних груп (III та IV групи) після токсичної дії Cr(VI) на 34 і 53% відповідно порівняно з контролем, що може бути пов'язано з Cr(VI)-індукованим ушкодженням мембран гепатоцитів з наступним вивільненням амінотрансфераз у кров [101]. Попередній вплив ЕТС за наступної 7-ми добової Cr(VI)-індукованої інтоксикації призводив до достовірної активації АлАТ у плазмі крові тварин на 38% щодо показників II групи. Проте, інтенсивність активації АлАТ у крові тварин VI групи (38%) у порівнянні з II групою була на 56% нижчою, ніж гіперактивація відповідного ензиму у плазмі крові щурів III групи (94%) щодо показників I групи. Джерела літератури повідомляють, що антиоксидантний ефект окремих представників тіосульфонатів протидіє процесам ПОЛ та окисному ушкодженню гепатоцитів, що сприяє зниженню гіперактивації АлАТ у плазмі крові щурів [5]. В усіх дослідних групах, які отримували ЕТС протягом 14 діб (V, VI, VII групи), нами не зареєстровано статистично достовірних змін активності АсАТ у плазмі крові тварин щодо показників II групи. Ми спостерігали лише тенденцію до

зниження інтенсивності Cr(VI)-індукованої активації АсАТ у крові тварин за умов попереднього впливу ЕТС (VII група) відповідно до показників II групи.

Одним з важливих маркерів ушкодження печінки та гепатотоксичності є коефіцієнт де Рітиса, який використовують як індикатор порушення функцій гепатоцитів за умов оксидативного стресу та інтоксикації важкими металами [156]. Співвідношення ензиматичної активності АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітиса) достовірно знижувалося за 7-ми та 14-ти добової Cr(VI) токсичності на 31 та 29% відповідно порівняно з показниками I групи, що свідчить про індуковані дією Cr(VI) запалення печінки та гепатотоксичність. За попереднього впливу ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) ми спостерігали тенденцію до відновлення показників коефіцієнту де Рітиса відповідно до значень у нормі.

ЛФ (лужна фосфатаза) відноситься до групи ензимів, які регулюють клітинний обмін шляхом відщеплення фосфатних залишків від молекул протеїнів та нуклеотидів за умов лужного рН [283]. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес супроводжувався достовірним підвищенням ензиматичної активності ЛФ у плазмі крові тварин III і IV дослідних груп на 41 і 39% відповідно у порівнянні з показниками контролю, що може вказувати на Cr(VI)-індуковану мембранну деінтеграцію ЛФ гепатоцитів та клітин нирок з наступним перенесенням відповідного ензиму у плазму крові [41; 247]. Попередня дія ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб сприяла достовірній активації ЛФ у плазмі крові щурів на 20 і 46% відповідно порівняно з II групою. Проте, інтенсивність активації ЛФ у плазмі крові щурів VI групи (20%) у порівнянні з II групою була удвічі нижчою, ніж відсоток активації ЛФ у плазмі тварин III групи (41%) у порівнянні з I групою. Інтенсивність активації ЛФ у крові тварин VII групи у порівнянні з II групою залишалася на рівні показників активності ЛФ у плазмі крові щурів IV групи щодо I групи.

**Показники активності окремих ензимів протеїнового метаболізму в крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	коефіцієнт де Рітіса	ЛФ, Од/л
I – контроль	39,9 ± 1,15	49,9 ± 3,23	1,25	116,3 ± 6,96
II – олія	39,3 ± 1,86	48,7 ± 1,57	1,24	106,2 ± 3,69
III – Cr 7 діб	77,6 ± 3,75 *	66,7 ± 2,23 *	0,86 *	164,2 ± 8,92 *
IV – Cr 14 діб	85,6 ± 2,77 *	76,4 ± 1,46 *	0,89 *	161,2 ± 11,05 *
V – ЕТС	38,3 ± 2,81	46,3 ± 1,61	1,21	111,9 ± 3,38
VI – ЕТС + Cr 7 діб	54,3 ± 2,94* #	55,8 ± 5,67	1,03	127,3 ± 6,20 #
VII – ЕТС + Cr 14 діб	42,9 ± 2,73	50,3 ± 1,45	1,17	155,2 ± 6,47 * #

Протеїни є важливими структурним та функціональними компонентами клітин, які характеризуються підвищеним рівнем чутливості до вільнорадикального впливу та оксидативного стресу [69]. В результаті проведених досліджень встановлено, що дія Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб призводила до достовірного зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові щурів на 33 та 30% відповідно порівняно з I групою (табл. 3.12), що свідчить про пригнічення анаболізму, стимуляцію катаболізму протеїнів та окисну модифікацію карбоксильних груп амінокислот за умов інтоксикації Cr(VI) [68; 101]. В усіх дослідних групах, які отримували ЕТС не виявлено статистично достовірних змін показників загального протеїну у плазмі крові, лише тенденцію до незначного зниження стосовно II групи. Спостерігалася напруженість до відновлення показників вмісту загального протеїну за попереднього впливу ЕТС та наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) у плазмі крові тварин відповідно до значень II групи.

**Окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів  
інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	Загальний вміст протеїну, г/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л
I – контроль	45,33 ± 4,23	50,01 ± 4,35	6,15 ± 0,65
II – олія	43,92 ± 2,58	56,74 ± 4,95	5,95 ± 0,72
III – Cr 7 діб	30,57 ± 2,57 *	76,4 ± 7,01 *	11,6 ± 1,45 *
IV – Cr 14 діб	31,74 ± 3,69 *	104,81 ± 6,00 *	12,67 ± 1,40 *
V – ЕТС	41,88 ± 2,46	52,66 ± 2,14	5,55 ± 0,48
VI – ЕТС + Cr 7 діб	37,90 ± 0,51	64,14 ± 4,26	9,39 ± 0,72 #
VII – ЕТС + Cr 14 діб	39,50 ± 0,88	90,52 ± 8,68 * #	10,54 ± 0,71 * #

Креатинін та сечовина є нітрогенвмісними кінцевими продуктами метаболізму амінокислот, які вивільняються клітинами у кров та в подальшому виводяться через нирки. Рівень відповідних молекул у плазмі крові застосовують як біомаркер для моніторингу функцій нирок [58; 305]. Надмірне зростання концентрації сечовини у плазмі крові пов'язане з атеросклерозом, депресією, резистентністю жирової тканини до інсуліну, зниженням секреції інсуліну та ризиком цукрового діабету [271]. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес протягом обох періодів інтоксикації сприяв достовірному підвищенню концентрації креатиніну у плазмі крові щурів на 52% (III група) та 110% (IV група) у порівнянні з показниками контролю, що зумовлено пошкодженням структури епітеліальних каналців та капілярів нефрону, сповільненням клубочкової фільтрації, стимуляцією процесів некрозу у нирках щурів [79; 305]. Попередній вплив ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб спричиняв достовірне підвищення вмісту креатиніну у крові тварин на 60% щодо показників II групи. Проте, інтенсивність підвищення креатиніну плазми крові щурів VII групи (60%) у порівнянні з II групою була на 50% нижчою, ніж відсоток зростання концентрації креатиніну в крові тварин IV групи (110%) у порівнянні з I групою. Ми

спостерігали лише тенденцію до відновлення рівня креатиніну у плазмі крові тварин VI групи відповідно до рівня показників у II групі.

Вміст сечовини достовірно підвищувався після 7-ми та 14-ти добової Cr(VI) інтоксикації у плазмі крові тварин на 89 та 106% відповідно у порівняно з контролем. Попередній вплив ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб призводив до достовірного підвищення вмісту сечовини у крові щурів на 58 та 77% щодо показників II групи. Проте, підвищення вмісту сечовини у плазмі крові щурів VI групи (58%) у порівнянні з II групою було на 31% нижчим, ніж відсоток зростання концентрації сечовини у плазмі тварин III групи (89%) у порівнянні з I групою. Аналогічно, відсоток збільшення вмісту сечовини у плазми крові щурів VII групи (77%) у порівнянні з II групою був на 29% нижчим, ніж відсоток зростання концентрації сечовини у плазмі тварин IV групи (106%) у порівнянні з I групою. Відомо, що природний аналог тіосульфатів – діалілтіосульфат сприяє активації системи АОЗ та підвищенню вмісту ВГ у нирках щурів з індукованим оксидативним стресом, що є основною причиною нефропротекторного ефекту та стабілізації вмісту креатиніну і сечовини в плазмі крові щурів [1]. Нами встановлено, що ЕТС спричиняв зниження вмісту ГПЛ та акумуляцію пулу ВГ у нирках щурів яким вводили Cr(VI), що може бути причиною зниження відсоткового вмісту креатиніну та сечовини у плазмі крові щурів VI та VII дослідних груп.

#### **Підсумки до підрозділу 3.1.4.**

1. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес протягом обох періодів інтоксикації призводив до порушень метаболізму за рахунок достовірного зниження вмісту загального протеїну плазми та коефіцієнту де Рітіса, достовірної гіперактивації амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ), ЛФ, а також до вірогідного підвищення вмісту креатиніну та сечовини у крові тварин.

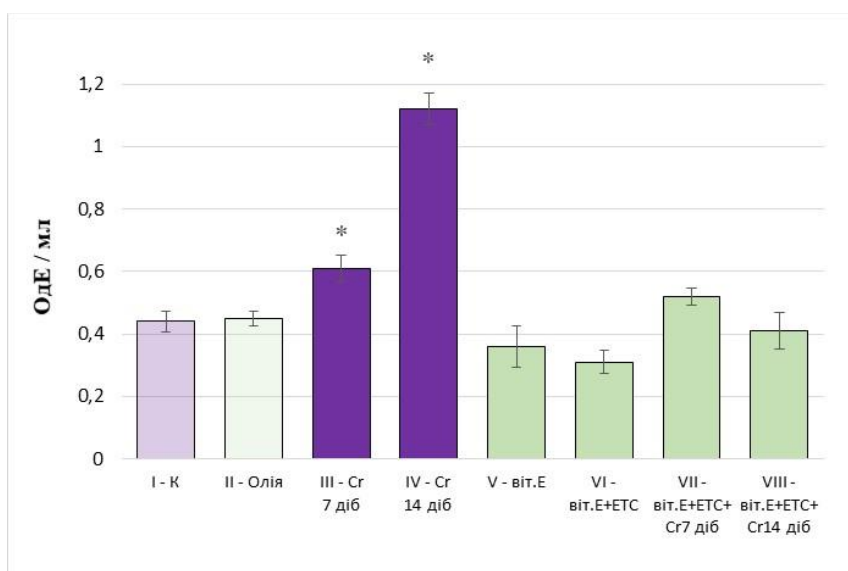
2. ЕТС частково компенсував токсичну дію Cr(VI) та достовірно знижував інтенсивність гіперактивації АлАТ, ЛФ за умов 7-ми добової інтоксикації, а також сприяв менш вираженому підвищенню вмісту креатиніну та сечовини після 14-ти добової токсичної дії Cr(VI).

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [138] та матеріалах конференцій [314].

### 3.2. Вплив етилтіосульфатату в поєднанні з вітаміном Е на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI)

#### 3.2.1. Вплив етилтіосульфатату у дозі 100 мг/кг в поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на стан про/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності

Гіперактивація процесів ПОЛ є важливим біомаркером Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу, який спричиняє апоптоз клітин крові шляхом порушення стабільності, бар'єрних та транспортних функції біологічних мембран [295; 305]. У другій серії досліджень встановлено достовірне підвищення рівня ГПЛ у плазмі крові тварин після 7-ми та 14-ти добового періоду Cr(VI) інтоксикації на 39 та 154% відповідно щодо показників контролю (рис. 3.4), що свідчить про стимуляцію процесів накопичення  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  та активацію ланцюгових реакцій автоокиснення ліпідних компонентів біомембран [113].



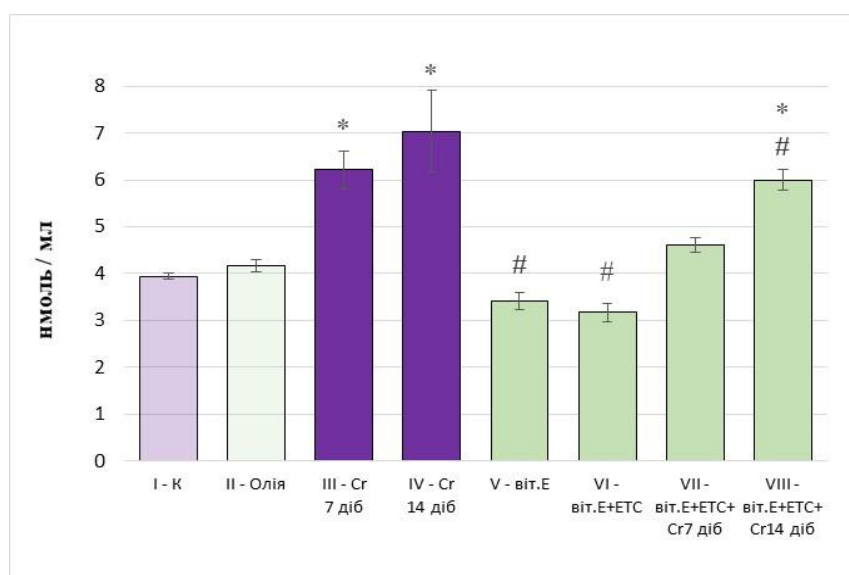
**Рис. 3.4.** Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

*Примітка:* статистично достовірні різниці показників II, III, IV, V, VI, VII, VIII груп щодо показників I групи (контролю): \* —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; віт. Е – вітамін Е.



За поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС нами не виявлено статистично достовірних змін показників ГПЛ у крові тварин жодної з дослідних груп стосовно контрольної. Було виявлено лише тенденцію до відновлення рівня ГПЛ у плазмі крові щурів за попередньої поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС та наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) відповідно до показників II групи.

Cr(VI)-індукована інтоксикація супроводжувалася достовірним зростання концентрації ТБК-активних продуктів у крові тварин як за 7-ми так і за 14-ти добового періоду на 58 та 79% відповідно у порівнянні з контролем (рис. 3.5), що свідчить про АФО-індуковане окиснення ліпідів у еритроцитах за дії Cr(VI) [298].

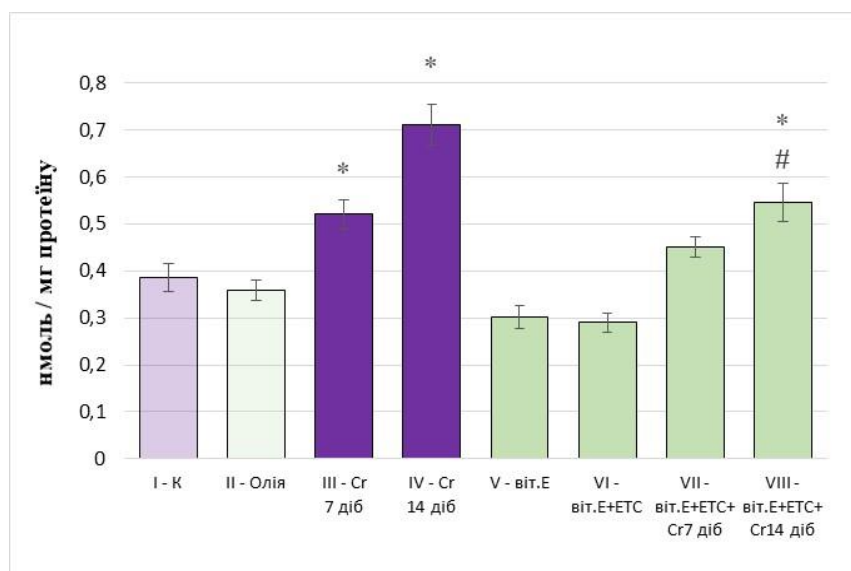


**Рис. 3.5.** Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) призводив до достовірного підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові тварин на 44% щодо показників II групи. Проте, інтенсивність утворення ТБК-активних продуктів у крові тварин VIII (44%) групи у порівнянні з II групою була на 35% нижчою, ніж відсоток зростання ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів IV (79%) групи щодо I групи. Дія вітаміну Е окремо та у поєднанні з ЕТС сприяла достовірному зниженню концентрації ТБК-активних продуктів в крові щурів на 18 та 24% відповідно у порівнянні з II групою. Вітамін Е та тіосульфони характеризуються здатністю до відновлення вільних радикалів [66;

169], що може бути причиною пригнічення процесів ПОЛ у плазмі крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI).

Концентрація КГП достовірно підвищувалася у крові тварин після 7-ми та 14-ти добового Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу на 35 та 88% відповідно щодо показників контролю (рис. 3.6), що може бути наслідком окисної модифікації протеїнів та амінокислот у процесі відновлення Cr(VI) [203].



**Рис. 3.6.** Вміст карбонільних груп протеїнів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) спричиняв достовірне зростання рівня КГП у крові тварин на 52% порівняно з показниками II групи. Проте, підвищення КГП у плазмі крові тварин VIII групи (52%) щодо показників II групи було на 36% нижчим, ніж відсоток зростання рівня КГП у крові щурів IV групи (88%) у порівнянні з I групою. Це свідчить, що вітамін Е у поєднанні з ЕТС пригнічують процеси окисної модифікації протеїнів у плазмі крові щурів. Відомо, що вітамін Е та ЕТС сприяють акумуляції неензиматичного антиоксиданту ВГ [66; 161], який зв'язує Cr(VI) та пригнічує процеси формування КГП [209].

При дослідженні активності ензимів АОЗ в другій серії досліджень зареєстровано достовірну активацію СОД в еритроцитах щурів за обох періодів токсичної дії Cr(VI) на 42% (III група) та 49% (IV група) відповідно у порівнянні з

контролем (табл. 3.12), що може бути наслідком підвищення концентрації  $O_2^-$  за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  [211].

Таблиця 3.12

**Показники активності супероксиддисмутази та каталази в еритроцитах крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Групи тварин	Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /хв×мг протеїну
I – контроль	3,85±0,34	6,30±0,42
II – олія	3,68±0,20	6,55±0,31
III – Cr 7 діб	5,49±0,37 *	8,01±1,00
IV – Cr 14 діб	5,77±0,41 *	8,63±0,78
V – віт. Е	4,50±0,28	7,31±0,42
VI – віт. Е + ЕТС	4,67±0,21 #	7,47±0,39
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	4,49±0,22	7,03±1,01
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	4,77±0,21 #	5,88±1,12

*Примітка:* статистично достовірна різниця показників II, III, IV, V, VI, VII, VIII груп щодо показників I групи (контролю): \*–\*\*\* —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; статистично достовірна різниця показників V, VI, VII, VIII груп стосовно II групи: #–### —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ .

Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) спричиняв достовірне підвищення активності СОД у еритроцитах щурів на 30% щодо показників у II групі. Проте, інтенсивність активації СОД у крові тварин VIII групи (30%) у порівнянні з II групою була на 19% нижчою, ніж підвищення активності відповідного ензиму у еритроцитах щурів IV групи (49%) щодо показників I групи. Поєднана дія вітаміну Е та ЕТС сприяла достовірній активації СОД у крові тварин на 27% у порівнянні з II групою. Відомо, що вітамін Е активує регулятор транскрипції antioxidant response element (ARE) з наступною активацією експресії генів СОД та КАТ [259], що може бути причиною ензиматичної активації СОД у еритроцитах щурів за поєднаного впливу вітаміну Е та ЕТС.

У результаті порівняння показників активності КАТ в еритроцитах тварин дослідних груп нами не виявило статистично достовірних змін у активності

відповідного ензиму (табл. 3.12). Ми спостерігали лише тенденцію до активації КАТ у еритроцитах щурів за обох періодів Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу.

Отримані нами результати досліджень свідчать про достовірну інактивацію ГП в еритроцитах щурів за 7-ми та 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) на 64 та 73% відповідно щодо контролю (табл. 3.13), що може бути наслідком окисної модифікації залишку селеноцистеїну в каталітичному центрі ензиму [189].

Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної 7-ми та 14-ти добової токсичної дії Cr(VI) супроводжувався достовірним зниженням активності ГП у крові щурів на 33 та 63% відповідно у порівнянні з показниками II групи. Проте, інтенсивність інактивації ГП у еритроцитах щурів VII та VIII груп (33 та 63%) порівняно з II групою була на 31 та 10% нижчою, ніж відсоток пригнічення активності ГП у крові тварин III та IV груп (64 та 73%) щодо показників I групи. Вітамін Е та органічні полісульфіди, представником яких є ЕТС, сприяють нейтралізації АФО та відновленню ГПЛ до нерадикальних продуктів, що у свою чергу послаблює навантаження на ГП [48; 189] та може бути причиною часткової стабілізації активності відповідного ензиму у еритроцитах щурів за умов інтоксикації Cr(VI). Вітамін Е окремо та у поєднанні з ЕТС сприяв достовірній активації ГП у крові щурів на 35 та 36% відповідно у порівнянні з II групою.

Аналіз показників активності ГР у еритроцитах щурів дослідних груп не виявив статистично достовірних змін активності відповідного ензиму (табл. 3.13). Ми спостерігали лише напрямленість до інактивації ГР у крові тварин після 14-ти добового періоду інтоксикації Cr(VI).

**Показники глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в еритроцитах щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну E та ETC (M±m, n=5)**

Групи тварин	Глутатіонпероксидаза, нмоль ВГ/хв×мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН /хв×мг протеїну	Відновлений глутатіон, ммоль/л
I – контроль	26,73±1,97	2,42±0,12	0,81±0,025
II – олія	24,32±1,26	2,05±0,33	0,89±0,064
III – Cr 7 діб	9,51±0,84 *	2,68±0,38	0,89±0,050
IV – Cr 14 діб	7,24±0,81 *	1,62±0,24	0,71±0,035
V – віт. E	32,96±2,35 #	2,21±0,14	1,10±0,051 * #
VI – віт. E + ETC	33,07±1,81 #	2,26±0,15	1,19±0,056 * #
VII – віт. E + ETC + Cr 7 діб	16,33±2,38 * #	2,28±0,18	1,27±0,033 * #
VIII – віт. E + ETC + Cr 14 діб	9,02±0,65 * #	1,62±0,10	1,41±0,029 * #

Нами не зареєстровано статистично достовірної різниці показників вмісту ВГ у еритроцитах щурів за обох періодів Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу (табл. 3.13). Проте, попередній поєднаний вплив вітаміну E та ETC за умов 7-ми та 14-ти добового впливу Cr(VI) призводив до достовірного підвищення концентрації ВГ у еритроцитах щурів на 43 та 58% відповідно у порівнянні з II групою. Природні аналоги тіосульфатів та вітамін E залучені у активації експресії генів гамма-глутамілцистеїнсинтетази та глутатіонсинтетази, які координують синтез молекул ВГ [76; 261], що може бути причиною акумуляції останнього у еритроцитах щурів. Дія вітаміну E окремо та у поєднанні з ETC аналогічно призводила до достовірного підвищення вмісту ВГ у крові щурів на 24 та 34% відповідно щодо показників II групи.

Потужним джерелом АФО та вільних радикалів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  є НАДФН-оксидаза та ксантин-ксантинооксидаза, які посилено активуються у присутності Cr(VI) та стимулюють процеси генерації  $O_2^-$ , окисної модифікації ліпідів,

протеїнів [203; 265; 278]. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес призводив до достовірного підвищення вмісту ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у тканині печінки тварин на 112, 69 та 46% відповідно щодо показників у контролі (табл. 3.14). Токсична дія Cr(VI) протягом 14-ти діб стимулювала достовірне зростання ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у печінці щурів на 127, 75 та 77% відповідно у порівнянні з контролем. Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб призводив до достовірного підвищення рівня ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у тканині печінки щурів на 52, 23 та 39% відповідно до показників II групи. Проте, відсоток зростання концентрації ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у печінці щурів VIII групи (52, 23 та 39%) у порівнянні з II групою був відповідно на 75, 52 та 38% нижчим, ніж підвищення їх рівня у печінці тварин IV групи (127, 75 та 77%) щодо показників I групи. Поєднана дія вітаміну Е та ЕТС призводила до достовірного зниження рівня КГП у тканині печінки тварин на 23% щодо показників II групи, що може свідчити про пригнічення активності ксантин-ксантинооксидазної системи та інгібування АФО-індукованих процесів окисної модифікації ліпідів та протеїнів у печінці [131; 204].

Процеси формування ГПЛ, ТБК-активних продуктів, КГП достовірно активувалися у тканині нирок щурів після обох періодів інтоксикації Cr(VI) на 39, 41, 77% у III групі та на 56, 46, 106% у IV групі відповідно до показників у контролі (табл. 3.14). Рівень ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП достовірно підвищувався у відповідь на попередню поєднану дію вітаміну Е та ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб у нирках тварин на 31, 30 та 44% відповідно порівняно з показниками II групи.

**Показники пероксидного окиснення ліпідів та протеїнів у тканині  
печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС  
(M±m, n=5)**

Показники Групи тварин	Гідропероксиди ліпідів, ОДЕ/г тканини	ТБК-активні продукти, нмоль/г тканини	Карбонільні групи протеїнів, нмоль/мг протеїну
<b>Печінка</b>			
I – контроль	0,220±0,011	2,96±0,06	0,92±0,04
II – олія	0,269±0,02	2,60±0,13	0,88±0,04
III – Cr 7 діб	0,466±0,061 **	4,99±0,65 **	1,34±0,11 **
IV – Cr 14 діб	0,5±0,091 **	5,18±0,34 **	1,63±0,12 **
V – віт. Е	0,238±0,008	2,27±0,23	0,76±0,05
VI – віт. Е + ЕТС	0,228±0,035	2,19±0,20	0,68±0,03 #
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	0,316±0,033	2,59±0,23	1,01±0,04
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	0,41±0,06 #	3,19±0,09 #	1,22±0,06 ##
<b>Нирки</b>			
I – контроль	0,330±0,031	4,91±0,39	0,453±0,056
II – олія	0,345±0,023	4,96±0,25	0,429±0,018
III – Cr 7 діб	0,459±0,046 *	6,92±0,43 *	0,802±0,076 **
IV – Cr 14 діб	0,516±0,032 **	7,17±0,25**	0,935±0,088 **
V – віт. Е	0,309±0,040	4,72±0,36	0,381±0,028
VI – віт. Е + ЕТС	0,319±0,017	4,79±0,24	0,353±0,019
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	0,400±0,031	6,01±0,65	0,524±0,021
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	0,452±0,030 * #	6,48±0,36 * #	0,616±0,033 ** ##

Проте, інтенсивність акумуляції ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у тканині нирок щурів VIII групи (31, 30 та 44%) у порівнянні з II групою була на 25, 16 та 62% нижчою, ніж рівень їх підвищення у нирках тварин IV групи (56, 46, 106%) щодо I групи. Відомо, що вітамін Е запобігає формуванню  $\text{OH}^-$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  у присутності важких металів з наступним пригніченням процесів  $\text{H}_2\text{O}_2$ -індукованого ушкодження ліпідів та протеїнів [55].

У результаті проведення досліджень нами зареєстровано достовірне зниження активності СОД у тканині печінки тварин після 7-ми та 14-ти добового Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу на 17 та 33% відповідно щодо контролю (табл. 3.15). Відповідний ефект може бути пов'язаний з тим, що Cr(VI) спричиняє інгібування активності відповідного ензиму у печінці шляхом пошкодження структури Cu- / Zn-залежної СОД [37; 39]. В усіх дослідних групах, яким вводили вітаміну Е у поєднанні з ЕТС нами не зареєстровано статистично достовірних змін активності СОД у печінці тварин. Ми спостерігали лише напрямленість до активації відповідного ензиму за поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС окремо (VI група) та за умов наступної інтоксикації Cr(VI) (VII, VIII групи).

Ензиматична активність СОД достовірно підвищувалася у тканині нирок щурів за 7-ми добового впливу Cr(VI) на 21% у порівнянні з показниками у контролі. За поєднаного впливу вітаміну Е та ЕТС ми не виявили статистично достовірних змін у показниках активності СОД у нирках щурів жодної із дослідних груп (VI, VII, VIII групи).

КАТ активність достовірно знижувалася після періоду 14-ти добової токсичної дії Cr(VI) у тканині печінки щурів на 13% порівняно з контролем (табл. 3.15), що може бути наслідком приєднання Cr(VI) до SH-групи активного центру ензиму з подальшим витісненням кофактора-металу з каталітичного центру [4]. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС достовірно стимулював активність КАТ у печінці тварин VI групи на 33% щодо показників II групи. Нами спостерігалася лише тенденція до відновлення ензиматичної активності КАТ у тканині печінки тварин VIII групи до рівня показників II групи.



**Показники активності супероксиддисмутази та каталази у тканині печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС у дозі 20 мг/кг та 100 мг/кг маси тіла відповідно (M±m, n=5)**

Показники Групи тварин	Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв×мг протеїну
<b>Печінка</b>		
I – контроль	23,49±0,56	16,27±0,49
II – олія	21,67±2,08	14,47±0,84
III – Cr 7 діб	19,45±0,71 *	18,05±1,91
IV – Cr 14 діб	15,79±1,95 **	14,17±0,38 *
V – віт. Е	29,13±2,19	16,57±1,29
VI – віт. Е + ЕТС	26,13±3,63	19,20±1,05 #
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	35,18±5,78 *	16,98±1,39
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	25,38±1,17	15,70±0,78
<b>Нирки</b>		
I – контроль	67,56±6,08	18,89±1,21
II – олія	59,39±4,52	18,03±0,87
III – Cr 7 діб	82,04±3,19 *	21,73±0,85
IV – Cr 14 діб	55,33±6,64	16,66±1,01
V – віт. Е	52,20±5,09	22,22±1,10 #
VI – віт. Е + ЕТС	53,11±7,28	23,00±1,25 #
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	53,86±5,77	20,45±0,86
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	55,45±5,31	18,35±0,48

У нирках зареєстровано напрямленість до підвищення активності КАТ у щурів III групи та тенденцію до її зниження у тварин IV групи. Проте, статистично достовірних змін активності ензиму у цьому випадку не спостерігалось. Вплив вітаміну Е окремо (V група) та у поєднанні з ЕТС (VI група) сприяв достовірній активації КАТ у тканині нирок тварин на 23 та 28% відповідно у порівнянні з II групою. Відомо, що вітамін Е активує ядерний транскрипційний фактор Nrf2, який стимулює експресію генів системи АОЗ, що може бути причиною активації КАТ у тканині нирок щурів [76]. Ми спостерігали лише тенденцію до відновлення активності КАТ у нирках щурів VIII групи у порівнянні з показниками II групи.

Встановлено, що токсична дія Cr(VI) призводила до підвищення активності ГП у тканині печінки тварин III дослідної групи на 55% порівняно з контролем (табл. 3.16), причиною якого може бути накопичення ГПЛ та H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у печінці щурів, які є субстратами для відповідного ензиму. Спостерігалася тенденція до відновлення активності ГП у печінці тварин за попередньої поєднаної дії вітаміну E та ETC та наступної інтоксикації Cr(VI) (VII, VII групи) відповідно до показників II групи.

Ензиматична активність ГП у тканині нирок щурів за впливу Cr(VI) достовірно зростала на 7-му добу інтоксикації та пригнічувалася на 14-ту добу на 85 та 25% відповідно щодо показників у контролі. Підтримання активності ГП на високому рівні за умов оксидативного стресу свідчить про високе молярне співвідношення ВГ/ОГ та достатній пул ВГ, проте більш тривалий вплив оксидативного стресу спричиняє виснаження пулу ВГ з наступним пригніченням активності ВГ-залежних ензимів [6]. Попередній поєднаний вплив вітаміну E та ETC за наступного 7-ми добового Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу супроводжувався достовірним зростанням активності ГП у нирках щурів на 38% порівняно з II групою. Проте, інтенсивність гіперактивації ГП у тканині нирок щурів VII групи (38%) у порівнянні з II групою була удвічі нижчою, ніж відсоток активації ГП у нирках тварин III групи (85%) щодо показників I групи. Нами спостерігалася тенденція до активації ГП у тканині нирок тварин за дії вітаміну E окремо (V група) та у поєднанні з ETC (VI група) у порівнянні з показниками II групи.

Виявлено тенденцію до пригнічення активності ГР за обох періодів впливу Cr(VI) (III, IV групи) та напруженість до активації відповідного ензиму у тканині печінки усіх дослідних груп, які отримували вітамін E та ETC (V, VI, VII, VIII групи). Проте, достовірних змін у активності ГР у цьому випадку нами не зареєстровано.

**Показники глутатионової ланки антиоксидантного захисту у тканині  
печінки та нирок щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС  
(M±m, n=5)**

Показники Групи тварин	Глутатіонпероксидаза, нмоль ВГ/хв×мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН/хв×мг протеїну	Відновлений глутатіон, ммоль/г
<b>Печінка</b>			
I – контроль	22,75±1,99	1,83±0,16	0,179±0,007
II – олія	25,70±1,32	1,89±0,24	0,193±0,009
III – Cr 7 діб	35,17±2,54 **	1,77±0,07	0,201±0,012
IV – Cr 14 діб	26,10±1,90	1,51±0,15	0,118±0,013 **
V – віт. Е	27,68±2,80	2,50±0,15	0,219±0,006
VI – віт. Е + ЕТС	26,93±0,90	2,38±0,24	0,230±0,009 * #
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	23,40±1,15	2,27±0,10	0,229±0,008 * #
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	24,04±0,94	2,30±0,13	0,238±0,013 ** #
<b>Нирки</b>			
I – контроль	96,52±5,06	2,41±0,37	0,149±0,011
II – олія	104,38±12,56	2,34±0,34	0,159±0,009
III – Cr 7 діб	178,21±14,17 ***	1,33±0,09 *	0,154±0,009
IV – Cr 14 діб	70,77±4,88 *	1,37±0,15 *	0,097±0,003 **
V – віт. Е	124,34±14,53	2,41±0,22	0,208±0,014
VI – віт. Е + ЕТС	127,69±11,94	2,52±0,17	0,229±0,028 **
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	143,69±11,91 * #	1,93±0,17	0,200±0,018
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	87,76±10,97	1,49±0,13 * #	0,210±0,026

Cr(VI)-індукована інтоксикація протягом 7-ми та 14-ти діб спричиняла достовірну інактивацію ГР у тканині нирок щурів на 45 та 43% відповідно порівняно з контролем (табл. 3.16), що може бути наслідком зв'язування Cr(VI) з окисно-

відновною парою тіол/тіолат та гістидиновим залишком у каталітичному центрі відновленої форми відповідного ензиму [214]. У результаті попередньої поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС за наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб активність ГР достовірно знижувалася на 36% у нирках тварин щодо показників II групи. У цьому випадку встановлено незначне послаблення відсоткового пригнічення активності ГР у тканині нирок щурів VIII групи (36%) щодо II групи у порівнянні з відсотковою інактивацією ензиму у нирках тварин IV групи (43%) щодо I групи.

Концентрація ВГ достовірно знижувалася після 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) на 34% у тканині печінки щурів щодо показників у контролі, що може бути причиною окиснення клітинного попередника для синтезу молекул ВГ (L-цистеїну) у процесі відновлення Cr(VI) [37]. Поєднана дія вітаміну Е та ЕТС окремо (VI група) та за наступної 7-ми (VII група) та 14-ти добової (VIII група) інтоксикації Cr(VI) супроводжувалася достовірною акумуляцією ВГ у печінці тварин на 21, 21 та 23% відповідно у порівнянні з II групою. Радикал-поглинаючі властивості вітаміну Е інгібують процеси формування вуглецево-центричних радикалів, які здатні безпосередньо реагувати з -SH групами ВГ [189], що у свою чергу може запобігати виснаженню пулу ВГ печінки щурів.

Cr(VI)-індукована 14-ти добова токсичність спричиняла достовірному зниженню концентрації ВГ у тканині нирок щурів на 36% порівняно з контролем. Процеси біосинтезу ВГ є АТФ-залежними [83]. Важкі метали спричиняють дисфункцію дихального ланцюга мітохондрій та процесів фосфорилування АТФ [225], що може бути причиною пригнічення синтезу ВГ у нирках щурів за умов інтоксикації Cr(VI). Виявлено тенденцію до підвищення вмісту ВГ у нирках тварин усіх дослідних груп за умов поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС відповідно до показників II групи. Проте, статистично достовірних змін у показниках рівня ВГ у цьому випадку нами не виявлено.

### **Підсумки до підрозділу 3.2.1.**

1. Внаслідок Cr(VI)-індукованої інтоксикації достовірно активувалися процеси ПОЛ та окисної модифікації протеїнів в крові, печінці та нирках щурів. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС сприяв достовірному зниженню рівня накопичення ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП за умов 14-ти добової Cr(VI) токсичності в крові та досліджуваних тканинах.

2. Спостерігалось достовірне підвищення СОД активності еритроцитів та достовірне інгібування відповідного ензиму у печінці щурів за обох періодів інтоксикації Cr(VI). Активність СОД у нирках достовірно стимулювалася у відповідь на 7-ми добову дію Cr(VI), а 14-ти добова токсичність Cr(VI) супроводжувалася достовірним пригніченням активності КАТ у відповідній тканині. Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС сприяв достовірному зниженню гіперактивації СОД у еритроцитах щурів за умов 14-ти добового впливу Cr(VI). Вплив вітаміну Е окремо сприяв достовірній активації КАТ у нирках, а поєднана дія вітаміну Е та ЕТС супроводжувалася достовірною стимуляцією СОД активності еритроцитів та КАТ активності в обох досліджуваних тканинах.

3. Інтоксикація Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб супроводжувалася достовірним пригніченням активності ГП у еритроцитах. ГП активність достовірно зростала у відповідь на 7-ми добову дію Cr(VI) в обох досліджуваних тканинах з наступним вірогідним пригніченням активності відповідного ензиму за 14-ти добової Cr(VI) токсичності у нирках щурів. Активність ГР достовірно пригнічувалася за обох періодів впливу Cr(VI) у нирках щурів, а вміст ВГ достовірно знижувався після 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) в обох досліджуваних тканинах. Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС достовірно знижував відсоткове інгібування ГП в еритроцитах та сприяв достовірній акумуляції пулу ВГ в еритроцитах та печінці щурів за обох періодів інтоксикації Cr(VI). Попередній ефект вітаміну Е у поєднанні з ЕТС достовірно знижував відсоток гіперактивації ГП за 7-ми добової токсичності Cr(VI) та сприяв достовірному зниженню відсотка інгібування ГР за 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) у нирках щурів. Дія вітаміну Е окремо та у поєднанні з ЕТС

сприяла достовірній активації глутатіонової ланки АОЗ шляхом стимуляції активності ГП в еритроцитах та підвищення вмісту ВГ у еритроцитах та печінці щурів.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [142] та матеріалах конференцій [317; 318].

### **3.2.2. Вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на окремі показники ліпідного метаболізму у крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

За впливу Cr(VI) виявлено достовірне зростання вмісту загальних ліпідів плазми крові щурів III (Cr(VI) 7 діб) та IV дослідних груп (Cr(VI) 14 діб) на 38 та 44% відповідно порівняно з контролем (табл. 3.17). Концентрація холестеролу у крові тварин III та IV дослідних груп достовірно підвищувалася на 41 та 56% відповідно щодо контролю. Причиною гіперліпідемії у крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI) може бути посилення експресії протеїну SREBP-1 з наступним накопиченням ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів [152].

*Таблиця 3.17*

#### **Показники вмісту загальних ліпідів та холестеролу крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	Загальні ліпіди, г/л	Загальний холестерол, ммоль/л
I – контроль	7,90±0,50	1,75 ± 0,14
II – олія	9,12 ±0,64	1,96 ± 0,14
III – Cr 7 діб	10,94±1,02 *	2,46 ± 0,19 *
IV – Cr 14 діб	11,4±1,15 *	2,73 ± 0,16 *
V – віт. Е	7,90 ±0,64	2,12 ± 0,30
VI – віт. Е + ЕТС	8,47±0,92	1,97 ± 0,13
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	9,88±1,93	2,20 ± 0,26
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	10,34±1,96	2,39 ± 0,21

Вплив вітаміну Е окремо (V група) та у поєднанні з ЕТС (VI, VII, VIII групи) не спричиняв статистично достовірних змін показників вмісту загальних ліпідів та

холестеролу крові щурів. Ми спостерігали лише тенденцію до зниження вмісту загальних ліпідів у плазмі крові тварин після поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС (VI група).

Аналіз окремих фракцій ліпідів плазми крові показав, що 7-ми та 14-ти добова дія Cr(VI) призводила до достовірного зниження відсоткового вмісту фосфоліпідів у плазмі крові тварин на 19 та 27% відповідно порівняно з контролем (табл. 3.18), що може свідчити про Cr(VI)-індуковану активацією фосфоліпази А2, яка стимулює процеси гідролізу мембранних фосфоліпідів [164]. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС окремо (VI група) та разом з 14-ти добовим впливом Cr(VI) (VIII група) призводив до достовірного підвищення вмісту фосфоліпідів у крові тварин на 17 та 18% відповідно щодо показників II групи, що може свідчити про потребу застосування відповідних ліпідів в адаптивних перебудовах клітинних мембран за дії ЕТС [218] та пригнічення процесів гідролізу фосфоліпідів за дії вітаміну Е шляхом інгібування фосфоліпази А2 [226].

Відомо, що токсичний ефект важких металів та оксидативний стрес супроводжуються інактивацією ензимів моноацилгліцеролліпази (МАГЛ) та диацилгліцерол кінази (ДАГК), що у свою чергу сприяє акумуляції моно- та диацилгліцеролів шляхом пригнічення процесів розщеплення та конвертації останніх [22; 92]. Моно- та диацилгліцероли достовірно підвищувалися за впливу Cr(VI) у плазмі крові тварин III і IV груп на 32 та 30% відповідно у порівнянні з показниками у контролі. Нами не зареєстровано статистично достовірних змін вмісту фракції моно- та диацилгліцеролів за поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС (VI, VII, VIII групи) та вмісту фракції триацилгліцеролів у крові щурів усіх дослідних груп.

Встановлено підвищення рівня НЕЖК у плазмі крові щурів на 33% за 14-ти добового впливу Cr(VI) порівняно з контролем, що може бути наслідком пригнічення процесів  $\beta$ -окислення жирних кислот за умов інтоксикації важкими металами [153]. Проте, поєднана дія вітаміну Е та ЕТС окремо (VI група) та за наступної 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) (VIII група) супроводжувалася достовірним зниженням вмісту НЕЖК у крові тварин на 21% порівняно з показниками II групи. Природні аналоги тіосульфатів та вітамін Е сприяють пришвидшенню розщеплення жирних кислот у

печінці [52; 102], що може бути причиною зниження концентрації НЕЖК у плазмі крові щурів.

Таблиця 3.18

**Показники відсоткового вмісту окремих класів ліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну E та ETC (M±m, n=5)**

Групи тварин Клас ліпідів, %	I – контроль	II – оля	III – Cr 7 діб	IV – Cr 14 діб	V – віт. E	VI – віт. E + ETC	VII – віт. E + ETC + Cr 7 діб	VIII – віт. E + ETC + Cr 14 діб
Фосфоліпіди	32,33± 1,61	32,75± 1,15	26,04± 1,60 *	23,00± 2,31 *	33,61 ± 1,12	38,46± 1,28 #	32,47± 1,82	38,68± 1,42* #
Моно- диацилгліцероли	9,78± 0,95	10,17± 1,16	12,94± 0,16 *	12,67± 0,50 *	10,38 ± 0,66	11,48 ± 0,56	11,81± 0,44	11,46± 0,34
Неестерифіковані жирні кислоти	13,39 ± 1,75	13,02± 0,58	16,27± 0,60	17,82± 0,53 *	11,73 ± 0,76	10,29± 0,83 #	10,84 ± 0,78	10,26 ± 0,35 #
Неестерифікований холестерол	12,94± 0,57	12,99± 0,29	12,23± 0,20	11,39± 0,29	12,73 ± 1,86	11,23± 0,84	14,96± 1,51	12,68± 0,47
Триацилгліцероли	17,81± 1,07	18,52± 1,69	17,33± 0,66	17,57± 2,68	17,39± 1,42	16,56 ± 1,10	16,84± 1,09	15,60± 3,23
Естерифікований холестерол	13,75± 3,42	12,57± 2,69	16,19± 0,25	17,56± 3,87	14,16± 1,28	11,98± 1,94	13,08± 0,90	11,33± 2,17

Що стосується показників неестерифікованого та естерифікованого холестеролу, то достовірних змін у крові тварин дослідних груп не було виявлено.

У ході досліджень ми спостерігали перерозподіл окремих класів фосфоліпідів у плазмі крові щурів дослідних груп. Виявлено достовірне підвищення вмісту ФК плазми у крові тварин як за 7-ми так і за 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) на 93 та 61% відповідно щодо контролю (табл. 3.19), що може свідчити про активацію процесів вільнорадикального окиснення кардіоліпіну до ФК за умов оксидативного стресу [299]. Відсотковий вміст фракції ФК достовірно зростав у крові щурів за поєднаного впливу вітаміну E та ETC та наступної токсичної дії Cr(VI) протягом 7- ми



(VII група) та 14-ти діб (VIII група) на 49 та 45% відповідно щодо показників II групи. Проте, відсоток підвищення вмісту ФК у крові щурів VII та VIII груп у порівнянні з II групою був на 44 та 16% нижчим, ніж відсоткове підвищення рівня ФК у крові тварин III та IV груп у порівнянні з показниками I групи, що може бути пов'язане з антиоксидантними властивостями ЕТС та вітаміну Е.

Таблиця 3.19

**Показники відсоткового вмісту окремих класів фосфоліпідів у плазмі крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин Клас фосфоліпідів, %	I – контроль	II – оля	III – Cr 7 діб	IV – Cr 14 діб	V – віт. Е	VI – віт. Е + ЕТС	VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб
Фосфатидна кислота, %	8,74± 1,27	9,05± 0,60	16,38± 1,98 *	14,04± 0,65 *	11,03 ± 0,78	8,12± 1,65	13,48± 0,68 #	13,14± 0,98 #
Фосфатидил- етаноламін, %	24,66± 1,94	25,20± 2,11	22,05± 2,62	21,53± 0,78	26,02 ± 2,36	24,11 ± 2,64	23,56± 0,61	24,27± 3,22
Фосфатидил- інозитол, %	7,40 ± 0,51	7,92± 0,46	7,75± 0,11	8,30± 0,38	7,35 ± 0,25	7,12± 0,56	8,57 ± 0,30	7,81 ± 0,98
Фосфатидил- холін, %	34,03± 0,97	33,11± 1,40	27,71± 3,09	20,19± 3,94 *	34,29 ± 1,93	35,99± 2,29	30,42± 1,26	26,32± 2,18 #
Фосфатидил- серин, %	9,20± 0,81	8,84± 0,88	7,96± 1,74	9,53± 1,36	7,53± 0,96	7,91 ± 0,17	9,05± 0,48	8,19± 0,85
Сфінгомелін, %	8,43± 0,61	8,14± 0,52	8,61± 0,82	8,17± 0,90	8,15± 0,81	7,76± 0,48	7,31± 0,60	8,38± 0,41
Лізофосфатидил- холін, %	7,54± 1,57	7,75± 0,88	9,54± 2,67	18,24± 3,45 *	5,62± 0,51	9,00 ± 1,56	7,64± 0,65	11,9± 0,67 #

Вміст фосфатидилхоліну достовірно знижувався у плазмі крові щурів за 14-ти добового впливу Cr(VI) на 41% у порівнянні з контролем, що може свідчити про Cr(VI)-індуковане пригнічення активності холінофосфаттрансферази на фоні підвищення концентрації диацилгліцеролів [237]. Попередній поєднаний вплив

вітаміну Е та ЕТС за наступного 14-ти добового впливу Cr(VI) супроводжувався достовірним зниженням вмісту фосфатидилхоліну у крові тварин VIII групи на 21% щодо показників II групи. Проте, відсоток зниження рівня фосфатидилхоліну у крові щурів VIII групи у порівнянні з II групою був удвічі нижчим, ніж відсоткове зниження вмісту фосфатидилхоліну у плазмі крові тварин IV групи щодо показників I групи, що може свідчити про специфічне інгібування процесу гідролізу фосфатидилхоліну до лізофосфатидилхоліну за дії вітаміну Е шляхом пригнічення активності фосфоліпази A2 [47].

Встановлено достовірне підвищення вмісту фракції лізофосфатидилхоліну за умов 14-ти добового впливу Cr(VI) у крові тварин IV групи на 142% у порівнянні з контролем. Достовірне підвищення рівня лізофосфатидилхоліну на 54% спостерігалось також після попередньої поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС та наступної 14-ти добової дії Cr(VI) у плазмі крові щурів VIII групи порівняно з показниками II групи. Проте, відсоткове підвищення рівня лізофосфатидилхоліну у крові тварин VIII групи у порівнянні з II групою було на 88% нижчим, ніж інтенсивність зростання рівня лізофосфатидилхоліну у плазмі крові щурів IV групи щодо показників I групи.

### **Підсумки до підрозділу 3.2.2.**

1. За обох періодів інтоксикації Cr(VI) спостерігалася гіперліпідемія за рахунок достовірного зростання вмісту загальних ліпідів та холестеролу у плазмі крові щурів. Токсична дія Cr(VI) спричиняла достовірне зниження відсоткового вмісту фосфоліпідів, підвищення рівня моно- та диацилгліцеролів за обох періодів інтоксикації Cr(VI), а також достовірне зростання фракції НЕЖК (Cr(VI) 14 діб).

2. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС частково компенсував 14-ти добові Cr(VI)-індуковані порушення ліпідного обміну за рахунок попередження зниження вмісту фосфоліпідів та запобігання підвищенню рівня НЕЖК у плазмі крові тварин. Дія вітаміну Е та ЕТС окремо сприяли достовірному підвищенню вмісту фракції фосфоліпідів та зниженню рівня НЕЖК у плазмі крові щурів.

3. Токсична дія Cr(VI) супроводжувалася перерозподілом класів фосфоліпідів у плазмі крові тварин за рахунок достовірного підвищення вмісту фракції ФК за обох

періодів інтоксикації та лізофосфатидилхоліну за 14-добової дії Cr(VI). Рівень фосфатидилхоліну у плазмі крові тварин достовірно знижувався за 14-ти добової інтоксикації Cr(VI). Вітамін Е та ЕТС достовірно знижували відсоткове підвищення концентрації ФК за обох періодів інтоксикації Cr(VI) та частково компенсували порушення вмісту фосфатидилхоліну, лізофосфатидилхоліну індуковані 14-ти добовою інтоксикацією Cr(VI).

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [138] та матеріалах конференцій [319; 320].

### **3.2.3. Вплив ЕТС у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном Е у дозі 20 мг/кг маси тіла на гематологічні параметри крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

В результаті досліджень встановлено достовірне зниження вмісту гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів після інтоксикації Cr(VI) у крові тварин III групи на 19, 16 та 19% та IV групи на 31, 25 та 35% порівняно з контролем (табл. 3.20). Це свідчить про Cr(VI)-індуковане інгібування процесів біосинтезу гемоглобіну [258] та гальмування процесів диференціації еритроцитів, лейкоцитів шляхом ушкодження гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку [100].

Не виявлено статистично достовірних змін у показниках гемоглобіну та еритроцитів за поєданого впливу вітаміну Е та ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) у крові щурів VII та VIII дослідних груп. Ми спостерігали лише тенденцію до відновлення рівня гемоглобіну та числа еритроцитів у крові тварин VII та VIII дослідних груп відповідно до показників II групи.

**Гематологічні показники крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії  
вітаміну Е та ЕТС (M±m, n=5)**

Групи тварин	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	Лейкоцити, г/л
I – контроль	126,61±7,86	8,16±0,29	9,67±0,27
II – олія	123,35±5,73	8,32±0,3	9,92±0,30
III – Cr 7 діб	102,43±2,88 *	6,89±0,26 *	7,89±0,38 *
IV – Cr 14 діб	87,41±2,45 *	6,11±0,20 *	6,27±0,17 *
V – віт. Е	121,28±7,12	8,55±0,36	9,85±0,22
VI – віт. Е + ЕТС	121,75±5,78	8,83±0,41	9,71±0,26
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	123,31±5,08	8,28±0,44	8,97±0,32
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	112,25±4,46	7,87±0,38	8,29±0,33 * #

Поєднаний вплив вітаміну Е і ЕТС попередньо до 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) спричиняв достовірне зниження числа лейкоцитів у крові щурів VIII групи на 16% щодо показників II групи. Проте, відсоток зниження кількості лейкоцитів у крові щурів VIII групи (16%) у порівнянні з II групою був удвічі нижчим, ніж відсоток зменшення числа лейкоцитів у крові тварин IV групи (35%) щодо показників I групи. Джерела літератури повідомляють, що саме антиоксидантний та цитопротекторний ефект вітаміну Е сприяє попередженню Cr(VI)-індукованого зниження кількості лейкоцитів [46]. Встановлено лише напрямленість до відновлення числа лейкоцитів у крові щурів VII групи по відношенню до показників II групи, однак, статистично достовірної різниці показників не виявлено.

### **Підсумки до підрозділу 3.2.3.**

1. Токсична дія Cr(VI) призводила до порушення гомеостазу гематологічних показників за рахунок достовірного зменшення кількості еритроцитів, лейкоцитів та вмісту гемоглобіну крові щурів за обох періодів інтоксикації. Поєднаний вплив вітаміну E та ETC частково компенсував негативний ефект 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) за рахунок нормалізації числа лейкоцитів у крові тварин.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [138].

### **3.2.4. Вплив ETC у дозі 100 мг/кг у поєднанні з вітаміном E у дозі 20 мг/кг маси тіла на окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої токсичності**

Підвищення активності АлАТ, АсАТ плазми крові є важливим показником структурного та функціонального стану печінки за умов інтоксикації Cr(VI) [174]. Встановлено, що за впливу Cr(VI) спостерігалася достовірна активація АлАТ у плазмі крові тварин III та IV дослідних груп на 121 та 122% відповідно у порівнянні з контролем (табл. 3.21). Відомо, що Cr(VI) стимулює запальні процеси у гепатоцитах внаслідок посилення експресії IL-1 $\beta$  [294], що може бути причиною ушкодження гепатоцитів та вивільнення АлАТ у плазму крові. Ензиматична активність АлАТ у крові щурів достовірно підвищувалася за умов поєднаного впливу вітаміну E та ETC та наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми (VII група) та 14-ти діб (VIII група) на 51 та 61% відповідно щодо показників II групи. Проте, відсоток активації АлАТ у плазмі крові тварин VII та VIII груп (51 та 61%) у порівнянні з II групою був удвічі нижчим, ніж відсоткове підвищення активності АлАТ у крові щурів III та IV дослідних груп (121 та 122%) порівняно з I групою. Відомо, що сульфуроорганічні природні аналоги тіосульфанілатів ефективно знижують гепатотоксичність та запальні процеси шляхом посилення експресії протеїну Bcl-2 та маркера проліферації Ki-67, що у свою чергу сприяє стабілізації активності АлАТ у плазми крові за умов оксидативного стресу [235].

Активність АсАТ достовірно зростала як за 7-ми, так і за 14-ти добової Cr(VI) інтоксикації у плазмі крові щурів на 54 та 40% відповідно щодо контролю, що може

свідчити про більш інтенсивне проникнення АсАТ з гепатоцитів у кров внаслідок Cr(VI)-індукованих запальних процесів у печінці, спричинених стимуляцією експресії IL-6 та TNF- $\alpha$  [279]. Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної 7-ми та 14-ти добової дії Cr(VI) призводив до достовірної активації АсАТ у крові тварин на 29 та 24% відповідно щодо показників II групи. Проте, відсоткове підвищення активності АсАТ у плазмі крові тварин VII та VIII груп (29 та 24%) щодо показників II групи було на 25 та 16% нижчим, ніж відсоток активації відповідного ензиму у крові тварин III та IV дослідних груп (54 та 40%) порівняно з I групою.

Таблиця 3.21

**Показники активності окремих ензимів протеїнового метаболізму в крові щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії вітаміну Е та ЕТС (M $\pm$ m, n=5)**

Групи тварин	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	коефіцієнт де Рітіса	ЛФ, Од/л
I – контроль	41,50 $\pm$ 6,51	52,21 $\pm$ 5,52	1,26	90,49 $\pm$ 4,55
II – олія	48,33 $\pm$ 2,61	53,18 $\pm$ 1,98	1,10	81,20 $\pm$ 2,66
III – Cr 7 діб	91,74 $\pm$ 6,84 *	80,51 $\pm$ 4,40 *	0,88	139,56 $\pm$ 11,53*
IV – Cr 14 діб	92,22 $\pm$ 2,56 *	73,07 $\pm$ 4,55 *	0,79*	165,63 $\pm$ 6,16*
V – віт. Е	43,14 $\pm$ 4,58	47,23 $\pm$ 1,18	1,10	85,97 $\pm$ 6,21
VI – віт. Е + ЕТС	45,57 $\pm$ 6,48	50,82 $\pm$ 3,31	1,12	71,83 $\pm$ 6,30
VII – віт. Е + ЕТС + Cr 7 діб	72,88 $\pm$ 3,56 * #	68,74 $\pm$ 3,46 * #	0,94	105,96 $\pm$ 6,19 #
VIII – віт. Е + ЕТС + Cr 14 діб	77,59 $\pm$ 6,76 * #	65,92 $\pm$ 2,22#	0,85	138,05 $\pm$ 5,32*#

У більшості випадків гепатоцелюлярної токсичності та гепатопатії рівень АлАТ у сироватці крові підвищуються більш інтенсивно у порівнянні з АсАТ, що власне і є причиною зниження коефіцієнту де Рітіса [196]. Показники коефіцієнту де Рітіса (співвідношення активності АсАТ/АлАТ) достовірно знижувалися у плазмі крові

щурів за дії Cr(VI) протягом 14-ти діб на 37% у порівнянні з показниками I групи, що може вказувати на активацію запальних процесів у печінці та нирках за дії Cr(VI) з наступним вивільненням та накопиченням АЛАТ у плазмі крові [174]. В усіх інших дослідних групах, які отримували вітамін Е окремо або у поєднанні з ЕТС (V, VI, VII, VIII групи) нами не виявлено статистично достовірних змін показників де Рітіса.

Ензиматична активність ЛФ достовірно зростала за 7-ми та 14-ти добового впливу Cr(VI) у плазмі крові щурів на 54 та 83% відповідно щодо показників I групи. Попередній поєднаний вплив вітаміну Е і ЕТС за наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб призводив до достовірної активації ЛФ у крові тварин VII та VIII груп на 30 та 70% відповідно у порівнянні з показниками II групи. Проте, відсоток активації ЛФ у плазмі крові щурів VII та VIII груп у порівнянні з II групою був на 24 та 13% нижчим ніж відсоткове зростання активності ЛФ у плазмі крові тварин III та IV дослідних групи у порівнянні з I групою.

Вплив Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувався достовірним зниженням загального вмісту протеїну у плазмі крові щурів на 28% щодо показників I групи (табл. 3.22), що може свідчити про Cr(VI)-індуковані ушкодження фільтрувального апарату нирок з наступним розвитком стану протеїнурії [232]. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС за наступної дії Cr(VI) протягом 14-ти діб (VIII група) сприяв достовірному зниженню загального вмісту протеїну на 12% у порівнянні з II групи, однак, відсоткове зниження у цьому випадку було удвічі нижчим ніж у групі тварин, яким вводили лише Cr(VI) протягом 14 діб (IV група). В усіх інших дослідних групах не зареєстровано статистично достовірних змін у показниках вмісту протеїну в плазмі крові. Виявлено лише тенденцію до зниження вмісту протеїну у крові тварин III групи щодо показників I групи. Нами зареєстровано лише напруженість до відновлення рівня протеїну в крові щурів за попередньої дії вітаміну Е та ЕТС та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 7-ми діб (VII група) відповідно до показників II групи.

Cr(VI) стимулює процеси розщеплення та деградації протеїнів з наступним підвищенням концентрації сечовини та креатиніну у плазмі крові, які є кінцевими продуктом обміну амінокислот [79]. Рівень креатиніну достовірно підвищувався у плазмі крові щурів за умов 7-ми та 14-ти добового впливу Cr(VI) на 79 і 144% щодо

показників у контролі, як можливий наслідок розладу процесів ниркової фільтрації за дії Cr(VI) внаслідок активації механізмів запалення, фіброзу та тубулярного некрозу ниркових епітеліальних каналців [232]. Вміст креатиніну аналогічно підвищувався за попереднього впливу вітаміну E і ETC та наступної інтоксикації Cr(VI) протягом 14-ти діб у крові тварин VIII групи на 98% щодо показників II групи. Проте, відсоткове зростання рівня креатиніну у плазмі крові тварин VIII групи порівняно з II групою, було на 46% нижчим, ніж підвищення вмісту креатиніну у крові щурів IV групи щодо показників I групи.

Таблиця 3.22

**Окремі показники протеїнового метаболізму в крові щурів інтоксикованих Cr(VI) та за дії вітаміну E і ETC (M±m, n=5)**

Групи тварин	Загальний вміст протеїну, г/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л
I – контроль	43,91 ± 1,68	74,94 ± 2,52	5,36 ± 0,37
II – олія	44,28 ± 0,71	74,70 ± 2,26	5,14 ± 0,46
III – Cr 7 діб	36,97 ± 3,50	134,41 ± 2,82 *	8,06 ± 0,76 *
IV – Cr 14 діб	33,94 ± 1,60 *	182,93 ± 22,9 *	10,76 ± 0,79 *
V – віт. E	46,20 ± 1,81	67,96 ± 2,76	4,56 ± 0,47
VI – віт. E + ETC	45,46 ± 1,44	71,64 ± 2,03	5,08 ± 0,53
VII – віт. E + ETC + Cr 7 діб	41,30 ± 1,17	100,42 ± 5,50	6,40 ± 0,66
VIII – віт. E + ETC + Cr 14 діб	38,83 ± 1,10 #	148,20 ± 6,38 * #	8,96 ± 0,97 * #

В результаті досліджень нами встановлено достовірне підвищення вмісту сечовини у плазмі крові щурів після 7-ми та 14-ти добового впливу Cr(VI) на 50 та 101% відповідно у порівнянні з контролем. Попередній поєднаний вплив вітаміну E і ETC за наступної токсичної дії Cr(VI) протягом 14-ти діб супроводжувався достовірним зростанням концентрації сечовини у крові щурів VIII групи на 74% у



порівнянні з II групою. Проте, відсоток підвищення вмісту сечовини у крові тварин VIII групи (74%) у порівнянні з II групою, був на 27% нижчим, ніж зростання концентрації сечовини у плазмі крові тварин IV групи (101%) щодо показників I групи. Відомо, що оксидативний стрес, апоптоз та запалення, індуковані дією потужних прооксидантів, призводять до підвищення рівня креатинін та сечовини крові, що свідчить про порушення функціонального стану нирок, ушкодження гломерулярної мембрани ниркових клубочків на фоні зниження швидкості клубочкової фільтрації та втрати нормальної проникності гломерулярних мембран [1]. Сульфуроорганічні аналоги тіосульфонатів та вітамін E характеризуються нефропротекторними властивостями, знижують інтенсивність процесів ПОЛ, окисної модифікації протеїнів, формування АФО, а також сприяють відновленню пулу ВГ та активації антиоксидантних ензимів у нирках за умов оксидативного стресу, що сприяє відновленню гістологічної структури нирок та нормалізації показників креатиніну і сечовини крові [1; 123].

#### **Підсумки до підрозділу 3.2.4.**

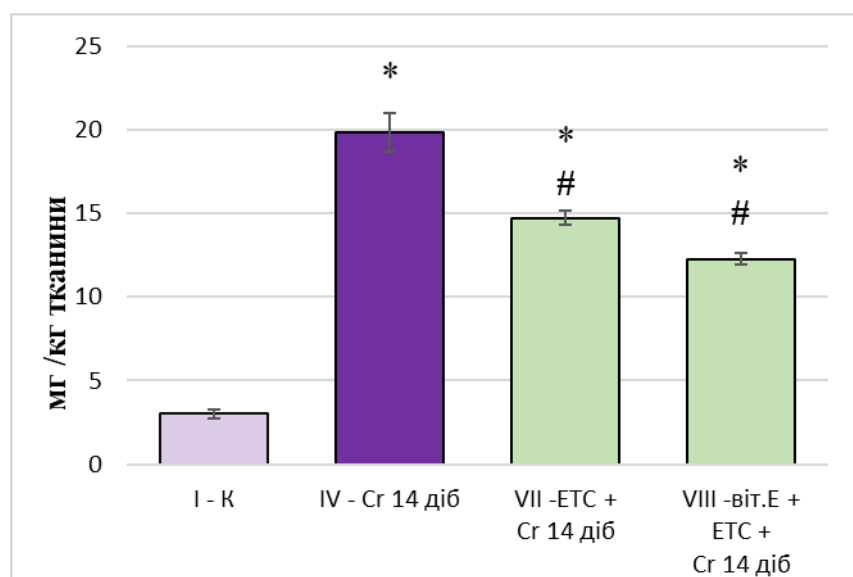
1. Cr(VI) спричиняв порушенням нормального функціонування ензимів протеїнового обміну за рахунок достовірного підвищення активності АЛАТ, АсАТ, ЛФ за обох періодів інтоксикації та достовірного зниження коефіцієнту де Рітіса після 14-ти добового періоду дії  $K_2Cr_2O_7$ . Дія вітаміну E та ЕТС частково послаблювала 7- ми та 14-ти добовий токсичний ефект Cr(VI) за рахунок достовірного зниження гіперактивації амінотрансфераз та ЛФ у плазмі крові.

2. Вплив Cr(VI) супроводжувався достовірним зниженням загального вмісту протеїнів за умов 14-ти добової дії на фоні достовірного підвищення концентрації креатиніну та сечовини у плазмі крові тварин за обох періодів впливу Cr(VI). Поєднаний вплив вітаміну E і ЕТС достовірно знижував відсоток підвищення рівня креатиніну, сечовини та відсоток зниження вмісту загального протеїну у крові щурів за умов 14-ти добової Cr(VI) токсичності.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [139] та матеріалах конференцій [312].

### 3.3. Вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на вміст Хрому у тканині печінки щурів за умов інтоксикації Cr(VI)

Важливим параметром, який відображає ступінь інтоксикації організму Cr(VI) є рівень накопичення відповідного важкого металу у тканинах та органах. Печінка є одним із органів, який інтенсивно накопичує Cr(VI) з системи кровообігу [291; 303]. Cr(VI) по мережі капілярів надходить до клітин печінки та акумулюється гепатоцитами, що в подальшому призводить до гепатотоксичності, гіперплазії, фіброзу, некрозу та апоптозу гепатоцитів [245]. Тому, нами проведено визначення вмісту загального Хрому у печінці щурів після 14-ти добового внутрішньоочеревинного впливу Cr(VI) окремо, а також за попереднього впливу вітаміну Е і ЕТС та наступної 14-ти добової дії Cr(VI) з метою оцінки рівня акумуляції відповідного важкого металу у тканині печінки щурів відповідних дослідних груп (IV, VII, VIII групи).



**Рис. 3.7.** Вміст Хрому у тканині печінки щурів інтоксикованих Cr(VI) за дії ЕТС окремо або у поєднанні з вітаміном Е ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

*Примітка:* статистично достовірні різниці показників IV, VII, VIII груп щодо показників I групи (контролю): \* —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; статистично достовірні різниці показників VII, VIII груп стосовно IV групи: # —  $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$ ; віт. Е – вітамін Е.

Встановлено, що вплив Cr(VI) протягом 14-ти діб (IV група) спричиняв достовірне підвищення вмісту Хрому у печінці щурів у 6,6 рази порівняно з контролем (рис. 3.7.).

Попередній вплив ЕТС окремо (VII група) та у поєднанні з вітаміном Е (VIII група) за наступної 14-ти добового впливу Cr(VI) супроводжувався достовірним зростанням вмісту Хрому у 4,9 та 4,1 рази у печінці щурів щодо показників контролю. Проте, відсоток накопичення Хрому у тканині печінки щурів VII та VIII дослідних груп був на 26 та 38% нижчим у порівнянні з показниками IV групи, що свідчить про зниження відсоткового накопичення Cr(VI) у печінці щурів, яким вводили ЕТС окремо або у поєднанні з вітаміном Е попередньо до інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Відомо, що ВГ є специфічним хелатором Cr(VI), а також пришвидшує процеси відновлення та виведення відповідного важкого металу з організму [304]. Нами зареєстровано достовірну акумуляцію пулу ВГ у печінці тварин, які отримували ЕТС окремо або у поєднанні з вітаміном Е попередньо до 14-ти добового впливу Cr(VI) [140; 142], що може бути причиною зниження рівня акумуляції Cr(VI) у тканині печінки відповідних дослідних груп.

### **Підсумки до розділу 3.3.**

1. Вплив Cr(VI) протягом 14-ти діб призводив до значного та достовірного підвищення вмісту Хрому у тканині печінки щурів, проте попередній ефект ЕТС окремо або у поєднанні з вітаміном Е сприяв достовірному зниженню рівня акумуляції Хрому у печінці щурів.

Результати досліджень наведені вище опубліковано у статті [138].

## РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Впродовж останніх років стрімко підвищується інтенсивність забруднення навколишнього середовища сполуками важких металів. Основною причиною цього є активізація антропогенної та техногенної діяльності, спалювання викопного палива, гірничо-металургійна промисловість, застосування добрив, пестицидів, зливання стічних вод, а також накопичення відходів з електроприладів та побутових джерел [130]. Важкі метали акумулюються в клітинах живих організмів і як наслідок спричиняють порушення метаболізму. Проникаючи у клітину, важкі метали взаємодіють з ліпідами, протеїнами та нуклеїновими кислотами, порушуючи структурні та функціональні особливості цих макромолекул [74; 113]. Накопичення важких металів в організмі людини призводить до ушкоджень тканин та внутрішніх органів, зокрема дихальної, нервової, репродуктивної, видільної та травної систем. Тривала токсична дія цих речовин призводить до міо-, нейродегенеративних процесів та значно підвищує ризики розвитку синдромів Альцгеймера і Паркінсона [74; 130].

Cr(VI) вважається одним з найбільш шкідливих для екосистеми важких металів, який характеризується потужними генотоксичними, канцерогенними та мутагенними властивостями по відношенню до живих організмів та людини зокрема. Агентство з охорони навколишнього середовища США (USEPA) та Агентство з реєстру токсичних речовин і захворювань (ATSDR), включили Cr(VI) до списку пріоритетних глобальних забруднювачів навколишнього середовища. Вплив Cr(VI) значно підвищує ризик виникнення онкологічних захворювань у людини та тварин, а також пов'язаний з підвищеною смертністю серед рослинних та водних організмів [72; 147].

Зокрема, Cr(VI) є невід'ємним компонентом у таких технологічних процесах як: виробництво фарби, дублення шкіри, виготовлення магнітної стрічки, виробництво вуглеводнів (роль каталізатора), обробка металів, виробництво хромату, зварювання нержавіючої сталі [29; 35]. Під час промислової обробки шкіри (дублення шкіри) понад 20% сполук Cr, які використовуються у виробничому процесі викидаються у вигляді стічних вод. Промислові відходи забруднюють навколишні ґрунти та водойми токсичним Cr(VI), що створює серйозні ризики для отруєння організму

тварин та людей [174]. Сполуки хрому Cr(VI) накопичуються у клітинах живих організмів, які населяють забрудненні ділянки екосистем і таким чином токсичний важкий метал включаються у харчовий ланцюг [282].

Здебільшого Cr(VI) з природних та промислових джерел представлений у вигляді хромат та дихромат оксианіону ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ;  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), який за своєю хімічною структурою є дуже близький до сульфат аніону. У клітинну мембрану вбудовано велику кількість транспортерів для сульфат аніонів, які Cr(VI) використовує для легкого проникнення у клітину [62; 282]. У цитоплазмі клітин Cr(VI) відновлюється клітинними редуцентами (аскорбінова кислота, глутатіон) через реакційноздатні проміжні форми Cr(V), Cr(IV) до форми Cr(III), яка є набагато стабільнішою. Окиснювально-відновні пари Cr(VI)/(V), Cr(V)/(IV) є циклічними донорами електронів у процесах, які є аналогічні до реакцій Фентона. У ході відповідних циклічних окисно-відновних процесів генеруються активні форми кисню (АФО), які пошкоджують структуру геномної ДНК, ліпідів, протеїнів та інших макромолекул [4]. Таким чином, основними шляхами Cr(VI)-індукованої токсичності є активація механізмів оксидативного стресу, ушкодження структури ДНК, епігенетичні механізми зміни експресії генів. Усі ці порушення призводять до цитотоксичності, клітинного мутагенезу, канцерогенезу, апоптозу [62], тератогенності, кластогенності, хромосомних ушкоджень, зниження кількості лейкоцитів та порушення механізмів транскрипції, трансляції, експресії протеїнів [282].

Система АОЗ клітини відіграє ключову роль у протидії негативним наслідкам Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу в біологічних системах [21; 230]. Ензиматичні та неензиматичні компоненти системи АОЗ, такі як НАДФН-залежні флавоензими та ВГ, стимулюють та прискорюють відновлення Cr(VI) до набагато менш токсичного Cr(III). Нейтралізація Cr(VI) здійснюється шляхом ензиматичного відновлення до Cr(V) і подальшої трансформації у Cr-вмісні солі за участі ГР та НАДФН. Неензиматичні антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, N-ацетилцистеїн, глутамін та ВГ знижують інтенсивність окисного ушкодження, шляхом прямої участі у процесах відновлення Cr(VI) [242; 256]. Такі ензими, як СОД, КАТ, ГП і неензиматичний трипептид ВГ нейтралізують велику кількість АФО, які

генеруються у процесі відновлення Cr(VI) [149; 232]. Проте, тривалий Cr(VI)-індукований оксидативний стрес призводить до виснаження ресурсів системи АОЗ, посилення прооксидантних процесів і як наслідок окисного пошкодження клітин, тканин та органів [176; 294].

Вважається, що підтримка антиоксидантного статусу є найважливішим аспектом у процесі запобігання та корекції негативних ефектів Cr(VI)-індукованої токсичності [25; 101; 292]. Саме тому, в останні роки, актуальним завданням науковців є пошук дієвих антиоксидантних сполук, які здатні запобігати Cr(VI)-індукованому виснаженню системи АОЗ. Біологічно активні речовини, яким притаманні антиоксидантні, детоксикуючі та цитопротекторні властивості, є хорошими кандидатами для профілактики та зниження негативних ефектів Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [4; 36; 183; 210; 231].

ЕТС (етилтіосульфанілат) – це синтетична сірковмісна органічна сполука. Молекула ЕТС має структуру  $RSO_2SR'$ , в якій R - залишок аніліну, а R' - алкільний залишок ( $-C_2H_5$ ) [167]. ЕТС відноситься до класу сполук тіосульфонатів, які є синтетичними аналогами природних біологічно активних сіркоорганічних сполук, виділених з часнику, цибулі, броколі, цвітної капусти та морського їжака. Тіосульфонати, у порівнянні зі своїми природними аналогами, характеризуються більш стабільною молекулярною структурою, відносяться до сполук з найнижчим класом токсичності та широким діапазоном біологічних ефектів. В останні роки багато дослідників вивчали протипухлинні, протизапальні, протигрибкові, антимікробні та імуномодулюючі властивості тіосульфонатів [169; 218]. Відомо, що аналоги тіосульфонатів, отримані з природних джерел, здатні стимулювати фактори транскрипції, які беруть участь в активації генів системи АОЗ [150; 151; 292]. Опубліковано дослідження, які описують антиоксидантні властивості тіосульфонатів. Окремі представники класу цих сполук проявляють антиоксидантний вплив за рахунок відновлення пулу ВГ та пригнічення процесів ПОЛ у печінці щурів за умов оксидативного стресу [5]. ЕТС проявляє антиоксидантну дію за рахунок зниження вмісту вільних радикалів *in vitro* та акумуляцію ВГ в еритроцитах *in vivo* [162]. Проте, дуже мало відомо про ефективність тіосульфонатів у протидії оксидативному стресу

індукованому токсичною дією важких металів, в тому числі Cr(VI). Природні сульфуроорганічні аналоги тіосульфонатів у свою чергу демонструють позитивний антиоксидантний ефект по відношенню до важких металів та Cr(VI)-індукованої токсичності зокрема [30; 65; 172; 292].

Зважаючи на позитивні антиоксидантні властивості тіосульфонатів та їх природних аналогів, актуальним завданням залишається дослідження особливостей впливу цих сполук на біохімічні та метаболічні процеси у організмі за умов Cr(VI)-індукованої інтоксикації.

Вітамін Е вважається найефективнішим жиророзчинним неензиматичним антиоксидантом, який захищає клітинну мембрану від радикал-індукованого пероксидного окиснення, стимулює активність антиоксидантних ензимів та знижує інтенсивність оксидативного стресу. Відомо, що вітамін Е ефективно протидіє Cr(VI)-індукованій токсичності. Зокрема, дія вітаміну Е у дозі 100 та 125 мг/кг маси тіла протягом 2-ох та 6-ти тижнів відповідно, знижує рівень  $K_2Cr_2O_7$ -індукованих процесів ПОЛ, запалення, гепато- та нефротоксичності, сприяє відновленню вмісту ВГ та СОД активності у печінці та нирках щурів [25; 101; 244]. Вітамін Е часто застосовують у поєднанні з іншими антиоксидантами з метою більш ефективної профілактики та корекції стану Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [101; 183; 207].

Тому, з метою зменшення токсичного впливу Cr(VI), були застосовані ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е.

При потраплянні в організм Cr(VI), завдяки відносно малій молекулярній масі, легко проникає з внутрішньоочеревинної порожнини до системи магістрального кровообігу. Процес проникнення відбувається шляхом дифузії через капіляри селезінки та кишківника, які транспортують Cr(VI) у ворітну вену [12].

Встановлено, що 7-ми добова інтоксикація  $K_2Cr_2O_7$  призводила до вірогідного підвищення вмісту ГПЛ та ТБК-активних продуктів у крові щурів як у першій, так і в другій серії досліджень. Більш виражене достовірне підвищення продуктів ПОЛ, спостерігалось після 14-ти добової інтоксикації Cr(VI) у крові тварин. Нами спостерігалася вірогідна інтенсифікація процесів окисної модифікації протеїнів у

плазмі крові тварин після 7-ми та 14-ти добової токсичної дії Cr(VI). Підвищення рівня продуктів ПОЛ та окисної модифікації протеїнів є важливими біомаркерами стану оксидативного стресу у біологічних системах. Cr(VI) є потужним прооксидантом та значно стимулює ці процеси [308]. Основна частина Cr(VI) який надходить у кров'яне русло поглинається еритроцитами, а від 30 до 75% токсичного Cr(VI) залишається у плазмі крові, яка виконує важливу функцію відновлення Cr(VI) до нетоксичної форми Cr(III) [221]. Проте, процес відновлення Cr(VI) до Cr(III) відбувається подібно до реакцій Фентона у ході яких формується велика кількість  $H_2O_2$ ,  $OH^-$  та  $O_2^-$ . Ці високореакційноздатні молекули є представниками АФО та активують механізми оксидативного стресу за рахунок стимуляції процесів ПОЛ та окисного ушкодження протеїнів. Саме Cr(VI)-індуковане підвищення рівня АФО є головною причиною підвищення вмісту ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у плазмі крові [203; 308]. Зокрема, дослідження Jing Xu та ін. [288] виявили, що рівень ТБК-активних продуктів значно зростає у сироватці крові людей, які проживають у промислових регіонах Китаю з підвищеним рівнем забруднення сполуками Cr(VI).

Попередній вплив ЕТС майже удвічі знижував інтенсивність накопичення ТБК- активних продуктів за 7-ми добової токсичності Cr(VI) та ГПЛ за обох періодів інтоксикації у плазмі крові тварин. Літературні джерела підтверджують отримані нами результати про те, що тіосульфати знижують інтенсивність ПОЛ. Зокрема, тіотаурин (2-аміноетан тіосульфат), який є представником класу сполук тіосульфатів, запобігав підвищенню концентрації ТБК-активних продуктів та виснаженню пулу ВГ у плазмі крові щурів за умов ацетамінофен-індукованого оксидативного стресу [5]. Відомо, що 0,1 М розчин ЕТС спричиняв антиоксиданту дію за рахунок ефективної антирадикальної активності та знижував концентрацію 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу *in vitro*. Можливо саме антиоксидантні та антирадикальні властивості тіосульфатів можуть бути причиною зниження інтенсивності Cr(VI)-індукованих процесів ПОЛ у плазмі крові щурів [162].

Вітамін Е окремо та у поєднанні з ЕТС сприяв вірогідному зменшенню концентрації ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів. Відповідні антиоксиданти сприяли вірогідному зниженню інтенсивності формування



ТБК- активних продуктів та КГП за умов 14-ти добової інтоксикації Cr(VI). Інтенсивність пригнічення процесів ПОЛ індукованих токсичною дією Cr(VI) була більш ефективною за поєданого впливу вітаміну Е та ЕТС, у порівнянні з дією ЕТС окремо. Імовірно саме додатковий вплив вітаміну Е підсилював антиоксидантний ефект ЕТС, що призводило до більш ефективного інгібування процесів ПОЛ. Літературні дані підтверджують отримані нами результати та свідчать про те, що внутрішньошлункова 15-ти добова дія вітаміну Е у дозі 100 мг/кг ефективно знижує рівень ПОЛ у плазмі крові щурів за умов інтоксикації важкими металами [71]. Дослідниками було встановлено пригнічення інтенсивності процесів окисної модифікації протеїнів індукованою дією важких металів у печінці щурів завдяки антиоксидантному ефекту вітаміну Е (40 мг/кг) [266].

Внутрішньоочеревинна інтоксикація розчином  $K_2Cr_2O_7$  призводила до вірогідного підвищення концентрації ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у обох досліджуваних тканинах (печінка, нирки) з більш вираженим зростанням вмісту відповідних маркерів окисативного стресу саме у печінці. Інтенсивність процесів ПОЛ та окисного ушкодження протеїнів була вищою за умов 14-ти добової інтоксикації Cr(VI).

Cr(VI)-індукована акумуляція АФО сприяє посиленню процесів ПОЛ та окисного ушкодження протеїнів у печінці та нирках, що призводить до підвищення рівня продуктів окисативного стресу (ГПЛ, ТБК-активні продукти, КГП) [25; 68; 203]. Cr(VI)-індуковане підвищення АФО негативно впливає на стабільність клітинних мембран, за рахунок порушення молекулярної структури біліпідного шару клітин, а також призводить до гепато-, нефротоксичності та ушкоджень структури ДНК [116; 127; 244].

Попередній внутрішньошлунковий вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е вірогідно знижує інтенсивність процесів ПОЛ та окисного ушкодження протеїнів за умов 14-ти добового Cr(VI)-індукованого окисативного стресу у тканині печінки та нирок тварин. Ефективність пригнічення Cr(VI)-індукованих процесів формування ГПЛ, ТБК-активних продуктів та КГП у цьому випадку була подібною за дії ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е.

Вітамін Е вважається дієвим допоміжним засобом у корекції порушень асоційованих з оксидативним стресом та дією важких металів [25], запобігає утворенню  $\text{OH}^-$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  у присутності перехідних металів, таких як  $\text{Fe}^{2+}$ , а також пригнічує процеси  $\text{H}_2\text{O}_2$ -індукованого ушкодження ДНК [55]. Вітамін Е є важливим компонентом цитоплазми та клітинної мембрани, запобігає активації ланцюгових реакцій автоокислення ліпідів за рахунок нейтралізації ліпідних та алкоксидних радикалів. Ліпідні радикали взаємодіють набагато швидше з вітаміном Е, ніж з структурними ліпідами клітинної мембрани [25; 234]. Пероральний прийом вітаміну Е послаблює гепатотоксичність, нефротоксичність спричинену  $\text{Cr(VI)}$  та знижує вміст ТБК-активних продуктів, КГП у печінці та нирках лабораторних щурів [25; 244]. Причиною зниження інтенсивності ПОЛ у досліджуваних тканинах щурів можуть бути антиоксидантні властивості сульфоефірної групи, яка є структурним компонентом молекули ЕТС [167; 169]. Ця функціональна група характеризується властивістю до нейтралізації ГПЛ [17]. Синтетичні та природні сульфуровмісні органічні сполуки, а також аналоги тіосульфонатів з природніх джерел мають здатність пригнічувати активність ксантин-ксантинооксидазної системи та інгібувати АФО-індуковані процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів [131; 204].

СОД (супероксиддисмутаза) є антиоксидантим ензимом першої ланки захисту, який спеціалізується на знешкодженні  $\text{O}_2^-$  шляхом дисмутації до  $\text{O}_2$  та менш реакційноздатного  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Процес СОД-індукованої дисмутації  $\text{O}_2^-$  проходить шляхом циклічних реакцій окиснення та відновлення металів у активному центрі ензиму. Мутації гену, що кодує СОД можуть викликати рак легень, товстої кишки, лімфатичної системи та провокувати нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Паркінсона чи бічний аміотрофічний склероз [24].

СОД активність вірогідно підвищувалася в еритроцитах щурів за обох періодів інтоксикації  $\text{Cr(VI)}$ , проте вірогідна інактивація відповідного ензиму спостерігалася у тканині печінки щурів як за 7-ми, так і за 14-ти добового  $\text{Cr(VI)}$ -індукованого оксидативного стресу. СОД активність у тканині нирок вірогідно зростала після 7-ми добової інтоксикації  $\text{Cr(VI)}$  та пригнічувалася у відповідь на 14-ти добову токсичну дію  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

Літературні джерела описують різноспрямований характер впливу Cr(VI) на активність СОД у різних тканинах, який залежить від тривалості дії та дози важкого металу. Зокрема, гіперактивація СОД у еритроцитах людини та лабораторних щурів у відповідь на Cr(VI)-індуковану інтоксикацію описується іншими авторами як компенсаторна активації системи АОЗ на посилену продукцію  $O_2^-$  [9; 267]. Soudani та ін. [256]. підтверджують отримані нами результати про те, що токсична дія Cr(VI) призводить до активації СОД у нирках лабораторних щурів. Очевидно, що посилення експресії генів відповідного ензиму у відповідь на інтоксикацію  $K_2Cr_2O_7$  може бути причиною компенсаторної активації СОД у нирках тварин з метою стимуляції процесу дисмутації  $O_2^-$  до менш реакційноздатного  $H_2O_2$  [78; 256].

Проте, аналіз літературних даних також свідчить про те, що Cr(VI) є сильним інгібітором ензиматичної активності СОД *in vitro* [37]. Можливо, саме ці дані можуть пояснити пригнічення активності СОД після більш тривалого токсичного впливу Cr(VI) у тканині нирок щурів (IV група), у печінці тварин за обох періодів токсичної дії Cr(VI) (III, IV групи). Мото та ін. [181] повідомляють, що введення  $K_2Cr_2O_7$  кроликам лінії *Doe* провокує пригнічення активності СОД у печінці та нирках цих тварин. Автори припускають, що висока концентрація  $O_2^-$  та ГПЛ в умовах Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу призводить до порушення регуляції ензиматичної активності СОД [181].

Активність СОД у еритроцитах щурів вірогідно зростала за умов поєднаного впливу вітаміну Е та ЕТС. Отримані нами результати узгоджуються з літературними даними про те, що згодовування лабораторним щурам ЕТС у дозі 100 мг/кг протягом 21 доби призводить до стимуляції активності СОД в еритроцитах тварин [162]. Вітамін Е потенційно може виконувати роль стимулятора синтезу ензимів системи АОЗ у різних типах клітин за рахунок обмеження взаємодії kelch-подібного ECH-асоційований протеїну 1 (Keap1) та протеїну Nrf2, що призводить до посилення експресії антиоксидантних генів за рахунок стимуляції антиоксидант-респонсивних елементів (ARE) [102; 189; 307].

Попередній внутрішньошлунковий вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв незначному, проте вірогідному зниженню активації СОД у

еритроцитах щурів за умов 14-ти добової інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Дія ЕТС окремо сприяла вірогідному зниженню інтенсивності активації СОД у тканині нирок після 7-ми добового періоду токсичної дії Cr(VI). Як відомо, основним стимулятором для СОД є  $O_2^-$ , який є потужним окислювачем [270; 296]. Ми припускаємо, що причиною зниження інтенсивності Cr(VI)-індукованої активації СОД у відповідь на попередню дію вітаміну Е та ЕТС може бути зменшення вмісту  $O_2^-$  у еритроцитах та тканині нирок індуковане дією антиоксидантів (вітамін Е та ЕТС). Наші припущення підкріплюються твердженнями інших авторів про те, що тіосульфонати є високореакційноздатними сполуками, які можуть взаємодіяти із вільними радикалами, нуклеофілами та електрофілами [169]. Вітамін Е також ефективно інгібує процеси генерації  $O_2^-$  у присутності перехідних металів, представником яких є Cr(VI) [55].

КАТ (каталаза) є одним із найважливіших антиоксидантних ензимів, який здійснює нейтралізацію клітинного  $H_2O_2$ , шляхом його каталітичного розкладання до води та кисню. Вважається, що дефіцит або ж збій у функціонуванні КАТ пов'язаний з патогенезом багатьох дегенеративних захворювань, таких як цукровий діабет, гіпертонія, анемія, біполярний розлад, онкологічні процеси, шизофренія, а також хвороба Альцгеймера та Паркінсона [193].

Cr(VI)-індукований оксидативний стрес призводив до вірогідної активації КАТ в еритроцитах щурів за обох періодів інтоксикації та у тканині нирок тварин після 7-ми добового введення  $K_2Cr_2O_7$ . Таким чином, ми спостерігали стимуляцію КАТ у відповідь на Cr(VI)-індуковане посилення продукції  $H_2O_2$ , що свідчить про активацію захисних механізмів клітин [78; 267].

Отримані результати підтверджують дослідження інших авторів, які свідчать, що Cr(VI) спричиняє активацію КАТ у еритроцитах щурів за рахунок підвищення вмісту  $H_2O_2$ , який є субстратом для відповідного ензиму [267]. Проте, було встановлено вірогідну інактивацію КАТ у нирках та печінці лабораторних щурів у відповідь на 14-ти добову токсичну дію Cr(VI). Очевидно, що тривала Cr(VI)-індукована акумуляція  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  та інших АФО у тканині печінки та нирок на фоні

вичерпання пулу неензиматичних антиоксидантів та ВГ призводить до виснаження ресурсу КАТ і як наслідок інгібування активності відповідного ензиму [18; 232].

Вплив ЕТС супроводжувався вірогідним зниженням активності КАТ в еритроцитах щурів за обох періодів інтоксикації Cr(VI) та у тканині печінки тварин після 7-ми добової Cr(VI)-індукованої токсичності. Можливо, відсутність потреби у додатковій стимуляції КАТ у цьому випадку пов'язана з високим рівнем ВГ та активністю ГР в еритроцитах та печінці лабораторних щурів VI, VII групи. Як відомо ВГ є важливим антиоксидантом, який може ефективно знешкоджувати  $H_2O_2$  ензиматичним та неензиматичним шляхом [29; 184; 229; 231]. Відповідно, ВГ-стимульоване знешкодження  $H_2O_2$  може сприяти зниженню навантаження на КАТ та часткову інактивацію відповідного ензиму. Важливо зазначити, що за впливу ЕТС послаблювалася інтенсивність Cr(VI)-індукованих процесів ПОЛ в еритроцитах та печінці щурів, що може свідчити про зниження рівня АФО та  $H_2O_2$  зокрема.

Вплив вітаміну Е окремо та у поєднанні з ЕТС сприяв активації КАТ у тканині нирок та печінки щурів. Як відомо, вітамін Е залучений у механізмах регуляції транскрипційного фактора Nrf2, який відповідає за експресію генів системи АОЗ [102; 189; 307]. Стимуляція Nrf2 призводить до збільшення експресії генів, які кодують КАТ [129]. Дослідження інших авторів підтверджують отримані нами результати та свідчать про активацію КАТ у нирках та серці щурів внаслідок дії вітаміну Е у дозі 50 мг/кг протягом 10 діб [15].

ГП (глутатіонпероксидаза) є тетрамерним ензимом, кожна субодиниця якого містить один атом Se у каталітичному сайті [60]. ГП та КАТ характеризуються однаковим шляхом каталізу  $H_2O_2$ . Однак ГП має вищу активність проти  $H_2O_2$ , ніж КАТ. Це пов'язано з відмінностями в кінетиці цих ензимів [197]. Пригнічення активності ГП супроводжується зміною структури інтегральних протеїнів, відповідальних за формування контактів між клітинним цитоскелетом та біліпідним шаром, що призводить до дестабілізації мембрани еритроцитів [228].

ГП вірогідно інактивувалася після обох періодів інтоксикації Cr(VI) у еритроцитах щурів, за винятком незначної компенсаторної активації після 7-ми добової токсичності Cr(VI) у I-й серії досліджень. Крім цього, 7-ми добова

інтоксикація  $K_2Cr_2O_7$  сприяла активації ГП у нирках та печінці у обох серіях досліджень, в той час як 14-добова інтоксикація призводила до зниження інтенсивності її активації (І серія досліджень) та виснаженням ресурсу відповідного ензиму (ІІ серія досліджень) у тканині нирок лабораторних тварин.

Отримані дані вказують на те, що клітинна система АОЗ першочергово активує ГП з метою запобігання підвищенню вмісту токсичного  $H_2O_2$ . Проте, тривалий  $Cr(VI)$ -індукований оксидативний стрес та нагромадження АФО призводить до порушення функціонування відповідного ензиму в еритроцитах та досліджуваних тканинах. Як відомо ГП більш ефективно працює за умов нормальних або відносно не високих концентрацій  $H_2O_2$ . Зниження ензиматичної активності ГП починає спостерігатися після досягнення рівня  $H_2O_2$  вище 5-10 М/л [18; 197]. Отримані нами результати досліджень узгоджуються з літературними даними про те, що  $Cr(VI)$ -індуковане підвищення концентрації ГПЛ та  $H_2O_2$  у нирках є причиною активації ГП на початкових етапах оксидативного стресу [143]. У свою чергу, інші дослідження повідомляють, що нирки є дуже чутливими до токсичної дії важких металів і більш тривале навантаження  $Cr(VI)$  може бути причиною пригнічення активності ГП у відповідному органі [205; 232]. Автори припускають, що механізм інактивації ГП за умов токсичності  $Cr(VI)$  здійснюється шляхом приєднання важкого металу до активного центру ензиму, прямого витіснення та заміщення металічного кофактора [256], пошкодження структури ензиму надмірною взаємодією з ГПЛ, або через окисну модифікацію залишку селеноцистеїну в каталітичному центрі ензиму. Інактивована вільними радикалами ГП розщеплюється протеазами. Таким чином, рівень молекул відповідного ензиму у клітині знижується [189].

Дія вітаміну Е окремо та у поєднанні з ЕТС сприяла вірогідній активації ГП в еритроцитах. Попередня поєднана дія вітаміну Е та ЕТС вірогідно знижувала інтенсивність інактивації ГП в еритроцитах за обох періодів  $Cr(VI)$  інтоксикації та у нирках за умов 7-ми добової токсичності.

Очевидно, що часткова стабілізація активності ГП в еритроцитах та нирках щурів за умов токсичної дії  $Cr(VI)$  була опосередкована антиоксидантним ефектом поєднаної дії вітаміну Е та ЕТС. Результати вищеописаних досліджень показали, що

поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС послаблював інтенсивність Cr(VI)-індукованих процесів ПОЛ. За даними літератури, різке підвищення вмісту ТБК-активних продуктів, ГПЛ та КГП супроводжується пригніченням активності ензимів глутатіонової ланки АОЗ [195]. Сульфоефірна група молекули ЕТС здатна ефективно відновлювати молекули ГПЛ до нерадикальних продуктів [17]. Вітамін Е є найбільш ефективним ліпофільним антиоксидантом у біологічних системах, який підтримує роботу ензимів АОЗ за рахунок пригнічення циклічних реакцій ПОЛ як у мембранах, так і у цитоплазмі клітин [25].

Можливо, саме антиоксидантна дія вітаміну Е та ЕТС, яка характеризується пригніченням процесів ПОЛ, може сприяти послабленню Cr(VI)-індукованої інактивації ГП у еритроцитах та тканині нирок щурів.

ГР (глутатіонредуктаза) є ключовим ензимом глутатіонової ланки АОЗ, який каталізує процес відновлення ОГ до ВГ у присутності НАДФН [59]. Підтримка високого молярного співвідношення ВГ/ОГ відіграє вирішальну роль у балансі окисно-відновних процесів у клітині та підвищує стійкість до оксидативного стресу [6; 75]. Дестабілізація активності ГР призводить до порушення співвідношення ВГ/ОГ, зниження життєздатності клітин та апоптозу індукованого станом оксидативного стресу. Цікаво, що оксидативний стрес на фоні пригнічення активності ГР пов'язаний з розвитком нейродегенеративних та серцево-судинних розладів, серповидно-клітинною анемією, муковісцидозом та підвищеним ризиком діабету [59].

Лише незначна проте вірогідна активація ГР спостерігалася в еритроцитах щурів за умов 7-ми добової інтоксикації Cr(VI). Джерела літератури описують компенсаторну активацію ГР у еритроцитах лабораторних щурів після токсичної дії Cr(VI) у дозі 2 мг/кг протягом 14 діб. Автори припускають, що це своєрідна адаптаційна реакція глутатіонової ланки АОЗ у відповідь на Cr(VI)-індуковане підвищення концентрації продуктів вільнорадикального окиснення [308]. Варто зазначити, що стимуляція ГР в еритроцитах тварин відбувалася на фоні активації ГП, що також доповнює припущення про компенсаторну активацію еритроцитарних

ензимів глутатіонової ланки у відповідь на ініціацію Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [37; 230].

Токсична дія Cr(VI) супроводжувалася вірогідною інактивацією ГР у тканині нирок за обох періодів інтоксикації та у печінці щурів після 14-ти добової токсичності  $K_2Cr_2O_7$ . Отримані нами дані узгоджуються з дослідженнями інших авторів, які свідчать про пригнічення активності ГР у печінці та нирках лабораторних щурів [18; 40; 191], причиною якого може бути Cr(VI)-індуковане виснаження пулу ВГ [87]. Згідно припущень Zeid та ін. [4] важкі метали, та Cr(VI) зокрема, призводять до пригнічення активності усіх ВГ-залежних ензимів. Літературні дані описують прямий механізм інгібування ГР за рахунок специфічного зв'язування важкого металу з окисно-відновною парою тіол/тіолат та гістидиновим залишком у каталітичному центрі відновленої форми ензиму. Зв'язаний іон металу викликає зміни у просторовій структурі ізоалоксазинового кільця флавінаденіндинуклеотиду (ФАД) та гідрофобності його мікросередовища, що призводить до інактивації ГР [214]. Як відомо, ГР є НАДФН-залежним ензимом і функціонує завдяки окисненню молекул НАДФН. Встановлено, що Cr(VI) індукує значне зниження пулу НАДФН шляхом, прямого зв'язування відповідних молекул [37; 230], або опосередковано шляхом активації НАДФН-оксидази [217], інгібування глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та зниженням рівня її субстрату (глюкозо-6-фосфату) [9; 152]. Як наслідок, Cr(VI)-індуковане зниження рівня НАДФН може додатково сприяти пригніченню ензиматичної активності ГР.

Попередня внутрішньошлункова дія ЕТС окремо та за наступної інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$  протягом 7-ми та 14-ти діб супроводжувалася вірогідною активацією ГР у еритроцитах щурів. Очевидно, що стимуляція ГР може бути пов'язана із посиленням експресії Nrf2, що сприяє загальній мобілізації системи АОЗ та зниженню інтенсивності прооксидантних процесів [261]. Відомо, що тіотаурин, який є представником тіосульфонатів, у дозі 2,4 мМ/кг ефективно протидіє індукованому оксидативному стресу, запобігає виснаженню активності ГР та підтримує на високому рівні роботу відповідного ензиму у крові та печінці лабораторних щурів [5]. Діалілтіосульфонат (аліцин), який є природним аналогом тіосульфонатів та ЕТС



зокрема, у дозі 10 мг/кг запобігає інактивації ГР у печінці щурів та збільшує експресію ГР мРНК за умов циклофосфамід-індукованого оксидативного стресу. Очевидно, Nrf2-стимулюючий ефект діалілтіосульфонату запобігає виснаженню ензимів глутатіонової ланки АОЗ у печінці щурів за умов інтоксикації важкими металами [293].

Поєднаний ефект вітаміну Е та ЕТС сприяв незначному, проте вірогідному зниженню інтенсивності 14-ти добового Cr(VI)-індукованого інгібування ГР у тканині нирок тварин. Відомо, що вітамін Е попереджає виснаження ресурсу ГР у нирках лабораторних щурів за умов інтоксикації важкими металами. Автори припускають, що зниження Cd-індукованого навантаження на ГР пов'язане зі здатністю вітамінів посилювати виведення та знижувати інтенсивність накопичення важких металів у біологічних тканинах [7]. Літературні джерела повідомляють, що вітамін Е здатний протидіяти інактивації ГР за умов оксидативного стресу у печінці лабораторних тварин шляхом зниження рівня прозапальних медіаторів, які стимулюють процеси ПОЛ [99]. Можливо саме протизапальні та антиоксидантні властивості вітаміну Е та ЕТС здатні послаблювати Cr(VI)-індуковане навантаження на активність ГР у тканині нирок лабораторних тварин.

ВГ (відновлений глутатіон) є одним із основних неензиматичних антиоксидантів та характеризується високим відновним потенціалом [194]. Завдяки наявності  $\gamma$ -зв'язку між двома амінокислотами у своїй структурі молекула ВГ володіє високою резистентністю до протеолізу. А наявність тіолвмісного амінокислотного залишку цистеїну забезпечує окисно-відновні та каталітичні властивості відповідного трипептиду [88].

Незначне, проте вірогідне підвищення рівня ВГ спостерігалось у еритроцитах тварин за умов 7-ми добової інтоксикації Cr(VI), що може свідчити про активацію глутатіонової ланки з метою зниження концентрації АФО та ГПЛ. Очевидно Cr(VI)-індуковане зростання рівня ВГ в еритроцитах щурів можна розглядати як компенсаторну активацію глутатіонової ланки у відповідь на оксидативний стрес [267]. Це узгоджується з даними про активацію ГП і ГР у еритроцитах тварин після 7-ми добової Cr(VI) токсичності.

Більш тривала 14-ти добова інтоксикація Cr(VI) призводила до вірогідного виснаження пулу ВГ у тканині печінки, нирок та еритроцитах лабораторних тварин. Літературні дані повідомляють, що ВГ відіграє ключову роль у неензиматичному процесі відновлення Cr(VI) до Cr(V) та Cr(IV) з подальшим формуванням комплексів ВГ-Cr(V)/Cr(IV), які згодом трансформуються у тверді нерозчинні сполуки. Утилізація ВГ та НАДФН у процесі відновлення та зв'язування Cr(VI) може бути причиною виснаження вмісту ВГ у тканинах [37; 230]. Крім того, клітинний L-цистеїн може окиснюватися під час метаболізму Cr(VI), обмежуючи таким чином синтез ВГ *de novo* [37]. Відомо, що Cr(VI)-індуковане вичерпання пулу ВГ асоційоване з гострою нефротоксичністю, запальними процесами та апоптозом у нирках лабораторних щурів. Саме процеси неензиматичного знешкодження АФО за участі ВГ є причиною зниження співвідношення ВГ/ОГ у нирках та печінці [184; 229; 231]. Відомо, що усі ВГ-залежні ензими та ГР зокрема дуже чутливі до токсичної дії важких металів, що у свою чергу негативно впливає на процеси відновлення та синтезу ВГ [4]. Шляхи біосинтезу нових молекул ВГ є АТФ-залежними [83], і дефіцит АТФ може спричинити зниження вмісту ВГ у клітинах [238]. Оксидативний стрес, індукований важкими металами, призводить до дисфункції дихального ланцюга мітохондрій і, як наслідок, пригнічення процесів синтезу АТФ у мітохондріях [225].

ЕТС сприяв вірогідному підвищенню та запобігав Cr(VI)-індукованому виснаженню вмісту ВГ у еритроцитах та обох досліджуваних тканинах. Рівень ВГ аналогічно підвищувався за дії вітаміну Е у еритроцитах тварин. Поєднана дія вітаміну Е та ЕТС сприяла вірогідній акумуляції та попереджала виснаження пулу ВГ за обох періодів токсичної дії  $K_2Cr_2O_7$  у еритроцитах та печінці лабораторних щурів. Отримані нами дані підтверджуються дослідженнями інших авторів про те, що згодовування ЕТС у дозі 100 мг/кг протягом 21 доби супроводжувалося вірогідним зростанням концентрації ВГ в еритроцитах лабораторних щурів [162]. Причиною підвищення вмісту ВГ у цьому випадку можуть бути біотрансформаційні процеси тіосульфонатів у клітинах, у ході яких відбувається взаємодія з тіоловими групами амінокислот. Внаслідок такого дисульфідного обміну можуть формуватися інші сульфуровмісні сполуки, які потенційно можуть використовуватися для процесів

біосинтезу молекул ВГ [162]. Виявлено, що природний аналог тіосульфонатів, діалілтіосульфонат, сприяв акумуляції та запобігав виснаженню пулу ВГ у печінці щурів за умов оксидативного стресу [151; 261]. Автори припускають, що зареєстрована ними діалілтіосульфонат-індукована активація експресії ядерного транскрипційного фактор Nrf2 може бути причиною стимуляції процесів відновлення та синтезу ВГ у тканині печінки щурів [261]. Літературні джерела повідомляють, що модуляція шляхів Nrf2/ARE супроводжується стимуляцією експресії генів та протеїнів ГР, гамма-глутамілцистеїнсинтетази та глутатіонсинтетази, які є ключовими ензимами відповідальними за відновлення та синтез ВГ [155]. Тому, зважаючи на літературні дані [162] та отримані нами результати, що ЕТС сприяє підвищенню вмісту ВГ як у еритроцитах, так і у тканинах лабораторних тварин, можна припустити, що механізми такої акумуляції можуть бути пов'язані з активацією Nrf2/ARE шляхів. Таке припущення підкріплюється джерелами літератури [261; 293], які описують важливу роль діалілтіосульфонату як природного аналога тіосульфонатів у активації механізмів Nrf2/ARE за умов оксидативного стресу та інтоксикації важкими металами.

Вітамін Е проявляє гепато- та нефропротекторні властивості, відновлює вміст ВГ та підтримує активність ензимів АОЗ за умов Cr(VI)-індукованої токсичності [25; 244]. Завдяки своїм радикал-поглинаючим властивостям вітамін Е знижує інтенсивність генерації вуглецево-центричних радикалів, здатних безпосередньо реагувати з біомолекулами, такими як -SH групи протеїнів, що призводить до зменшення споживання та виснаження пулу ВГ [189].

Метаболізм ліпідів має центральне значення для виживання та проліферації клітин, оскільки ці молекули є незамінними для структурних, сигнальних та енергетичних потреб. Важливу роль відіграють ліпіди як міжклітинні та внутрішньоклітинні сигнальні молекули для імунного самозахисту та підтримки гомеостазу [249].

Холестерол – це ліпофільна молекула, яка підтримує нормальний гомеостаз клітин та є важливим компонентом плазматичної мембрани. Молекули холестеролу регулюють жорсткість, текучість, проникність біліпідного шару, впливають на

конформацію трансмембранних протеїнів та є попередниками для синтезу вітаміну D, статевих та стероїдних гормонів, компонентів жовчі. Підвищений рівень холестеролу тісно пов'язаний з ризиком атеросклерозу та серцево-судинних захворювань [108; 171].

Триацилгліцероли – це складні ефіри, побудовані з гліцеролу та трьох залишків жирних кислот, які є основними складовими жиру в організмі хребетних [273]. У печінці гідроліз триацилгліцеролів забезпечує вивільнення жирних кислот, які використовуються для  $\beta$ -окислення, передачі сигналів та як субстрати для збирання ліпопротеїнів дуже низької щільності [264]. Гіпертригліцеридемія крові напряду пов'язане з ожирінням, погано контрольованим діабетом [10], панкреатитом, серцево-судинними захворюваннями, порушеннями клубочкової фільтрації [94].

Нами встановлено, що Cr(VI)-індукована інтоксикація супроводжувалася вірогідною гіперліпідимією, спричиненою підвищенням концентрації загальних ліпідів, холестеролу, моно-, ди- і триацилгліцеролів у плазмі крові щурів за обох періодів  $K_2Cr_2O_7$ -індукованої інтоксикації. Наші результати узгоджуються з даними літератури, які повідомляють що токсичний ефект важких металів (Hg, Pb, As) призводить до гіперліпідимії у плазмі як у людей, так і лабораторних тварин [16; 19; 80; 250]. Працівники промислових галузей по виробництву хроматів ( $CrO_4^{2-}$ ) контактують з Cr(VI) (40 годин на тиждень протягом року) і як наслідок мають підвищений рівень триацилгліцеролів, холестеролу та Cr у сироватці крові [80]. Автори припускають, що Cr(VI)-індукована стимуляція експресії SREBP-1 активує ліпогенез шляхом надлишкового синтезу ліпідів, триацилгліцеролів, холестеролу, вільних жирних кислот з подальшим їх накопиченням у органах та периферичних тканинах [152].

ЕТС-індукованої стабілізації вмісту триацилгліцеролів за умов інтоксикації Cr(VI) нами не спостерігалось. Проте, ЕТС сприяв зниженню інтенсивності накопичення загальних ліпідів та холестеролу у плазмі крові за умов 14-ти добової інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Відомо, що алілтіосульфанілат у дозі 300 мг/кг маси тіла сприяє зниженню вмісту естерифікованого холестеролу та загальних ліпідів у тканині нирок та печінки лабораторних щурів. Очевидно, тіосульфонати можуть бути залучені у

регуляції активності ензимів, які контролюють внутрішньоклітинні механізми гомеостазу холестеролу, що може бути причиною зниження холестеролу [218]. Сульфуроорганічні сполуки та природні аналоги тіосульфонатів такі як діалілтіосульфонат та діалілдисульфід сприяють зниженню вмісту холестеролу у крові шляхом інгібуванням 3-гідрокси-3-мелілглутарил-КоА-редуктази, яка залучена у процесах синтезу холестеролу [218; 276]. Можливо саме гіполіпідимічні властивості сульфуроорганічних сполук, тіосульфонатів та їх природних аналогів є причиною зниження рівня холестеролу та загальних ліпідів у плазмі крові щурів за дії ЕТС.

Моноацилгліцероли це клас ліпідів, молекули яких побудовані з гліцерину та залишку жирної кислоти об'єднаних за допомогою складноєфірного зв'язку [53; 106]. Диацилгліцероли складаються з двох залишків жирних кислот, які естерифіковані до гліцеринової основи [8]. Моно- та диацилгліцероли використовується у енергетичних процесах, виконують роль сигнальних молекул та клітинних месенджерів, а також регулюють механізми екзоцитозу інсуліном  $\beta$ -клітинами шляхом активації мембранного гомолога-1 протеїну ссавців unc13 (Munc13-1) [216]. З іншого боку, високі рівні моно- та диацилгліцеролів сприяють дефектній передачі сигналів інсуліну, запобігаючи фосфорилуванню субстрату рецептора інсуліну (IRS) та загальній дисфункції  $\beta$ -клітин [233].

Причиною Cr(VI)-індукованого підвищення вмісту фракції моно- та диацилгліцеролів може бути порушення активності ензимів, відповідальних за обмін цих ліпідів. Важливим ензимом ліпідного обміну є МАГЛ – сериногідролаза з розміром молекули 33 кДа, яка забезпечує у тканинах процеси розщеплення моноацилгліцеролів до жирних кислот та гліцеролу [34]. Токсична дія важких металів навіть за низьких концентрацій призводить до майже повної інактивації МАГЛ у клітинах крові кролів [92]. Відомо, що оксидативний стрес індукований дією  $H_2O_2$  (10- 1000 мкМ) або високою концентрацією глюкози (27,5 мМ) призводив до інгібування ДАГК у культурі мезангіальних клітин нирок людини на фоні зростання вмісту диацилгліцеролів [22]. Тому, зважаючи на літературні дані, можливо саме Cr(VI)-індукований оксидативний стрес може бути причиною порушення активності

МАГЛІ та ДАГК, що призводить до підвищення вмісту фракції моно- та диацилгліцеролів у плазмі крові лабораторних щурів.

НЕЖК (неестерифіковані жирні кислоти) виконують роль енергетичних субстратів, основних компонентів біомембран, попередників медіаторів, а також безпосередніх регуляторів метаболічних та імунних процесів [200]. Підвищений рівень вільних жирних кислот у плазмі крові індукує маркери ендотеліальної активації, судинного запалення та тромбозу, які ініціюють ранні судинні аномалії, атеросклероз та серцево-судинні захворювання [182].

Вміст НЕЖК плазми вірогідно підвищувався у відповідь на 14-ти добову інтоксикацію Cr(VI). Літературні джерела повідомляють, що інтоксикація Cr(VI) у дозі 0,5–1,25 мг/кг протягом 30 днів значно підвищує активність СЖК та експресію SREBP-1 у крові лабораторних мишей. Ензиматичний комплекс СЖК відіграє ключову роль у стимуляції синтезу жирних кислот та метаболізмі ліпідів, а SREBP-1 додатково стимулює акумуляцію вільних жирних кислот [152]. Liang та ін. [154] повідомляють, що токсичний вплив важких металів (Cd) пригнічує процеси  $\beta$ -окислення жирних кислот у клітинній лінії НМЕС-1, що зрештою призводить до надмірного підвищення концентрації вільних жирних кислот.

Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС сприяв вірогідному послабленню інтенсивності 14-ти добового Cr(VI)-індукованого підвищення рівня НЕЖК, а також знижував вміст НЕЖК плазми за окремої дії. Відомо, що ЕТС та інші алкільні тіосульфонати у дозі 300 мг/кг проявляють гіполіпідимічний ефект за рахунок зниження вмісту НЕЖК у тканинній печінки лабораторних щурів [218]. Відомо, що природний аналог тіосульфонатів діаліттіосульфонат задіяний у механізмах активації PPAR $\alpha$  шляхів, які як відомо, посилюють активність  $\beta$ -окиснення у мітохондріях, прискорюючи деградацію жирних кислот у печінці [52]. Вітамін Е у дозі 70 мг/кг сприяв зниженню вмісту жирних кислот шляхом Nrf2-індукованої стимуляції ядерного рецептору PPAR $\alpha$ , що призводило до вірогідного зниження акумуляції вільних жирних кислот у печінці мишей з неалкогольною жировою хворобою печінки [102].

Cr(VI)-індукована токсичність супроводжувалася достовірним зниженням концентрації неестерифікованого холестеролу та фосфоліпідів у крові тварин за обох періодів інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Можливо, саме інтенсивна прооксидантна активність Cr(VI) сприяла незначному, проте вірогідному зниженню вмісту неестерифікованого холестеролу крові тварин. Процеси відновлення важких металів, і Cr(VI) у тому числі, супроводжуються формуванням великої кількості АФО. Cr(VI)-індуковане порушення окисно-відновного потенціалу клітин призводить до окисної модифікації та деградації ліпідних компонентів мембрани та холестеролу зокрема [14]. Автори припускають, що структурні ушкодження ліпідних компонентів мембран за дії Cr(VI) спричиняють посилену акумуляцію неестерифікованого холестеролу у ліпідному бішарі клітин, що сприяє частковому зменшенню вмісту неестерифікованого холестеролу у плазмі крові [86]. Процеси трансформації естерифікованого холестеролу у неестерифіковану форму здійснюються у гепатоцитах за участі ензиму карбоксилестерази 1. Відповідний ензим стимулюється у присутності Nrf2 [102]. Відомо, що дія Cr(VI) призводить до пригнічення експресії Nrf2 у гепатоцитах мишей та щурів [122; 152], що власне може бути причиною пригнічення процесів накопичення неестерифікованого холестеролу [102].

Досліджуваної дози ЕТС було не достатньо для запобігання Cr(VI)-індукованого зниження пулу неестерифікованого холестеролу. Лише незначне, проте вірогідне ЕТС-індуковане послаблення інтенсивності зниження неестерифікованого холестеролу (на 8%) спостерігалось за умов 14-ти добової інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ .

Фосфоліпіди є важливими будівельними блоками клітинних мембран, які забезпечують оптимальне середовище для взаємодії, обміну та функціонування інтегральних протеїнів, мембранних рецепторів, ензимів та іонних каналів [133]. Порушення метаболізму та співвідношення фосфоліпідів у різних типах мембран асоційоване з розвитком хвороби Альцгеймера, стеатозом печінки, ожирінням, інсулінорезистентністю, діабетом 2-го типу, серцево-судинними захворюваннями [133; 185].

Літературні джерела повідомляють, що прооксидантна дія Cr(VI) призводить до селективного ушкодження клітинних мембран у печінці та нирках щурів,

підтвердженням чого є значне зниження вмісту фосфоліпідів у структурі ліпідного бішару [64; 263]. Long та ін. [164] припускають, що мембранні порушення складу фосфоліпідів у цьому випадку спричинені Cr(VI)-індукованою активацією фосфоліпази A2 з подальшим гідролізом фосфоліпідів та порушенням їх рівня у сироватці крові [202]. Оксидативний стрес та зниження антиоксидантного статусу було причиною активації пероксидного окиснення фосфоліпідів у плазмі крові пацієнтів з ревматоїдним артритом, яке індуковане дією вільних радикалів [170].

Поєднана дія вітаміну E та ETC окремо сприяла достовірному підвищенню, а також запобігала зниженню вмісту фосфоліпідів плазми крові щурів за умов 14-ти добової Cr(VI) інтоксикації. Очевидно, що властивість ETC знижувати інтенсивність Cr(VI)-індукованих процесів ПОЛ та стимулювати процеси акумуляції ВГ може бути причиною стабілізації вмісту фосфоліпідів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ . Підтримання пулу ВГ та пригнічення ПОЛ є важливою передумовою для протидії Cr(VI)-індукованому зниженню вмісту фосфоліпідів у мембрані клітин печінки та нирок лабораторних щурів [64].

Крім цього є повідомлення, що [226] дія вітаміну E у дозі 40 мг/кг протягом 3-ох тижнів послаблює інтенсивність гідролізу фосфоліпідів у печінці діабетичних щурів шляхом зниження активності фосфоліпази A2 та оксидативного стресу. Встановлено, що вітамін E відіграє роль специфічного інгібітора фосфоліпази A2 та значно знижує інтенсивність гідролізу фосфоліпідів [47]. Цей вітамін ефективно запобігає вільнорадикальній модифікації ПНЖК, які входять до складу мембранних фосфоліпідів [25]. Ми припускаємо, що описані вище антиоксидантні та модулюючі властивості вітаміну E та ETC можуть бути причиною запобігання виснаженню рівня фосфоліпідів плазми крові за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ .

Досліджувані сполуки спричиняли перерозподіл окремих класів фосфоліпідів у плазмі крові щурів.

ФК (фосфатидна кислота) є найпростішим диацилгліцерофосфоліпідом. ФК присутня лише в невеликих кількостях (менше кількох моль%) у біологічних мембранах, але все ж має вирішальне значення для виживання клітин. Це пов'язано з важливістю ФК у синтезі гліцерофосфоліпідів, ліпідною сигналізацією, мембранною



динамікою, реорганізацією цитоскелету та везикулярними процесами в усіх еукаріотичних клітинах [42; 132; 277].

Cr(VI)-індуковане зниження вмісту ФК може бути напряму пов'язане з прооксидантними властивостями  $K_2Cr_2O_7$ . Відомо, що мітохондріальний оксидативний стрес супроводжується процесами вільнорадикального окиснення кардіоліпіну, що може бути причиною формування та підвищення вмісту ФК [299]. Відомо, що довготривала дія Cr(VI) супроводжується порушеннями функціонування мітохондрій за рахунок пригнічення AMPK/PGC-1 $\alpha$  сигнальних шляхів з подальшим розвитком оксидативного стресу за рахунок посилення генерації мітохондріальних АФО [295]. Аналогічно, Nagele та ін. [98] повідомляють, що дія важких металів (Hg) активує фосфоліпазу D судинних ендотеліальних клітин шляхом розвитку стану оксидативного стресу. Фосфоліпаза D є мембранним інтегральним ензимом, який присутній у всіх клітинах ссавців, та забезпечує гідроліз фосфатидилхоліну саме до ФК, тим самим збільшуючи концентрацію останньої [98].

Встановлено, що попередній ефект вітаміну E та ETC знижував Cr(VI)-індуковане зростання концентрації ФК за обох періодів інтоксикації. Можливо це пов'язано саме з антиоксидантними властивостями цих сполук та підвищенням вмісту ВГ у крові та тканинах. Відомо, що ВГ є хелатором по відношенню до Cr(VI) та разом із вітаміном E проявляє високу антирадикальну дію [230; 244], що може бути причиною пригнічення Cr(VI)-індукованого гідролізу фосфоліпідів до ФК та накопичення останньої.

Фосфатидилхолін та фосфатидилетаноламін є двома найбільш поширеними фосфоліпідами, присутніми в мембранах еукаріотичних клітин, що становлять приблизно 50 і 25% від загального вмісту фосфоліпідів [105]. Фосфатидилхолін рівномірно розподілений по біліпідному шарі, тоді як фосфатидилетаноламін в основному знаходяться на внутрішній стороні мембрани, в основному мітохондрій [42].

Встановлено, що посилення процесів окисної модифікація фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну має зв'язок із запаленням і може індукувати розвиток

атеросклерозу шляхом формування комплексів окислених фосфоліпідів та ЛПНЩ за принципом рецептор-акцептор [206].

Встановлене нами Cr(VI)-індуковане зниження вмісту фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну у плазмі крові лабораторних щурів узгоджується з даними літератури. Відомо, що окисдатовний стрес та запальна реакція розглядалися як ключові механізми токсичної дії Cr(VI). Саме окисдатовний стрес згідно джерел літератури проковує ушкодження фосфатитилетаноламіну у мембрані еритроцитів та мітохондрій, шляхом окисної модифікації ПНЖК у гідрофобній ділянці молекули [104; 202; 206].

Hong та ін. [107] повідомляють, що фракція фосфатидилхоліну крові знижується у відповідь на дію Cr(VI) та негативно корелює з рівнем Cr. Дослідження на моделях клітинних ліній описують, що Cr(VI) у дозі 3 мкМ знижує вміст фосфатидилхоліну. Відповідний ефект на фоні підвищення вмісту триацилгліцеролів може свідчити про Cr(VI)-індуковане пригнічення активності холінофосфаттрансферази [237].

Очевидно, що Cr(VI)-індукована стимуляція гідролізу (у положенні sn-2) фосфатидилхоліну за у часті фосфоліпази A2 призводить до зростання концентрації лізофосфатидилхоліну у плазмі крові [164]. Лізофосфатидилхолін відіграє важливу роль у ініціації та прогресуванні запалення, розвитку ендотеліальної дисфункції та ушкодження судин. Відповідний фосфоліпід є важливою складовою поверхнево-активних речовин та бере участь у регуляції імунної відповіді легень за умов інтоксикації Cr(VI).

Лізофосфатидилхолін виконує свою біологічну роль шляхом зв'язування з G-протеїновими та Toll-подібними рецепторами та може індукувати міграцію лімфоцитів і макрофагів, збільшувати виробництво прозапальних цитокінів та АФО, активувати апоптоз. Підвищений рівень відповідного фосфоліпиду асоційований з розвитком атеросклерозу, запальних захворювань, діабету, адренолейкодистрофії, раку шийки матки [159; 164].

Вплив ЕТС окремо сприяв вірогідному підвищенню та послабленню інтенсивності зниження вмісту фосфатидилетаноламіну за умов 14-ти добової

токсичності у плазмі крові. Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС аналогічно попереджав виснаження рівня фосфатидилхоліну у плазмі крові тварин після 14-ти добової токсичності  $K_2Cr_2O_7$ . Наші дані узгоджуються з літературними, згідно яких ЕТС у дозі 300 мг/кг сприяє підвищенню фракції фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну у плазмі крові щурів. Автори припускають, що причиною підвищення концентрації фосфатидилетаноламіну може бути інтенсифікація процесів декарбоксілювання фосфатидилсерину, у ході яких синтезуються близько 80% фосфатидилетаноламіну [167]. Як зазначалося вище, вітамін Е ефективно захищає гідрофобні ділянки фосфоліпідів біомембран від окисної модифікації [25; 144], а також є специфічним інгібітором процесів гідролізу фосфатидилхоліну до лізофосфатидилхоліну у присутності фосфоліпази А2 [47]. Саме індуковане вітаміном Е інгібування ензиматичної активності фосфоліпази А2 може бути причиною стабілізації фракцій фосфатидил- та лізофосфатидилхоліну у крові щурів за умов Cr(VI)-індукованої інтоксикації.

Сфінгомієлін – це поширений сфінголіпід, який є основною складовою плазматичної мембрани, присутній в усіх тканинах ссавців, а особливо у центральній нервовій системі [31; 119]. Завдяки своїм холестеролзв'язуючим властивостям сфінгомієлін здатний формувати спеціальні мембранні комплекси – ліпідні «рафти», які у порівнянні з іншими ділянками мембран характеризуються більшою товщиною та підвищеною стійкістю до детергентів [31].

Підвищення вмісту сфінгомієліну у плазмі крові тварин спостерігалось у відповідь на 7-ми добову інтоксикацію Cr(VI), а за умов 14-ти добової токсичності спостерігалася тенденція до зниження вмісту. ЕТС додатково підсилював Cr(VI)-індуковані зміни у фракції сфінгомієліну. Літературні дані свідчать про те, що короткотривалий вплив важких металів призводить до порушення метаболітів плазми крові та супроводжується підвищенням вмісту сфінгомієліну [157]. Дія важких металів може бути пов'язана з активацією сфінгомієлінази у мембрані еритроцитів [11] або ж у клітинах печінки. Сфінгомієліназа стимулює процеси розпаду сфінгомієліну до кераміду та фосфорилхоліну [146]. Можливо саме більш тривала 14-ти добова дія

$K_2Cr_2O_7$  за умов попереднього вплив ЕТС може бути причиною зниження вмісту сфінгомієліну у плазмі крові щурів за рахунок посилення активності сфінгомієлінази.

Токсична дія  $K_2Cr_2O_7$  супроводжувалась змінами гематологічного профілю, зокрема вірогідним зниженням вмісту еритроцитів та гемоглобіну з інтенсивністю більш вираженою за умов 14-ти добової токсичності. Зниження кількості еритроцитів та гемоглобіну у крові щурів, які піддавалися впливу калій біхромату, пояснюється негативним впливом Cr(VI) на еритропоез та дихальну функцію крові, що підтверджується дослідженнями інших авторів [26; 118]. Надлишок Cr(VI) в крові призводить до порушення синтезу гему у гризунів з подальшим розвитком мікроцитарної анемії. Токсичні ефекти Cr(VI) супроводжуються пошкодженням мітохондрій та ДНК клітин крові, що призводить до канцерогенності. Cr(VI) підвищує цитозольну активність  $Ca^{2+}$  та виснажує пул АТФ, індукуючи таким чином ериптоз [221].

Cr(VI)-індукована генерація активних форм Оксигену та Нітрогену призводить до цитотоксичності та порушень у структурі мембран еритроцитів [109; 110]. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес спричиняє морфологічні порушення еритроцитів за рахунок ушкодження мембранних протеїнів та перекисного окиснення ліпідів. Наслідком модифікації цитоскелету клітин за дії Cr(VI) є зміна форми та структури еритроцитів, що проявляється у формуванні шипоподібних та бульбашкоподібних структур на поверхні плазматичної мембрани клітин [111].

Можливо саме антиоксидантні властивості ЕТС є причиною відновлення числа еритроцитів за умов 14-ти добового  $K_2Cr_2O_7$ -індукованого оксидативного стресу. Дія ЕТС сприяла достовірному підвищенню вмісту ВГ еритроцитів щурів за обох періодів інтоксикації. ВГ є важливим хелатором Cr(VI) та відіграє ключову роль у відновленні Cr(VI) у еритроцитах. Саме завдяки підтриманню високого співвідношення ВГ/ОГ еритроцити здатні ефективно знижувати рівень токсичного Cr(VI) як ензиматичним, так і прямим неензиматичним шляхом [111; 221]. Сульфуровмісні органічні сполуки, представником яких є ЕТС, можуть ефективно протидіяти Cr(VI)-індукованій цитотоксичності. Зокрема, преінкубація еритроцитів з таурином у дозі 1–5 мМ

протягом 30 хвилин призводить до значного пригнічення Cr(VI)-індукованої цитотоксичності [111].

Зниження вмісту гемоглобіну за умов Cr(VI)-індукованої токсичності, мабуть, пов'язане з пригніченням процесів його біосинтезу за рахунок зменшення пулу сукцинілу, гліцину, а також інгібуванням ензиматичної системи, яка бере участь у синтезі гемоглобіну. Причиною зниження концентрації гемоглобіну може бути, ймовірно, Cr(VI)-індуковані структурні зміна гему, які ускладнюють процеси синтезу гемоглобіну. Ушкодження гемоглобіну може бути спричинено зв'язуванням Cr(VI) з бета-ланцюгами відповідних молекул в еритроцитах [124; 258]. Отримані нами результати узгоджуються з даними Vandita та ін. [124] про те, що інтоксикація  $K_2Cr_2O_7$  у дозі 5 мг/кг протягом 30 діб призводить до значного зниження вмісту гемоглобіну у крові курчат.

Зниження кількості лейкоцитів за умов інтоксикації Cr(VI) може бути пов'язано з генералізованим ушкодженням стовбурових гемопоетичних клітин. Дія Cr(VI) призводить до появи мікроядер, розривів ланцюгів ДНК, хромосомних аберацій, фрагментації ДНК у лейкоцитах, кістковому мозку, печінці та головному мозку мишей [100]. Подібні порушення гемопоетичних механізмів спостерігалися після впливу  $K_2Cr_2O_7$  як у самців, так і у самок щурів. Зниження числа лейкоцитів може бути пов'язано з взаємодією Cr(VI) з біологічними компонентами на поверхні та всередині клітин, що спричиняє пероксидне окиснення цих сполук з подальшим апоптозом лейкоцитів [124; 221]. Літературні джерела описують токсичний ефект Cr(VI), який супроводжується зниженням кількості лейкоцитів у крові щурів у відповідь на інтоксикацію  $K_2Cr_2O_7$  (0,635 мг/кг) протягом трьох тижнів [67].

Дія вітаміну Е та ЕТС у поєднанні знижувала інтенсивність 14-ти добового Cr(VI)-індукованого зниження кількості лейкоцитів у крові щурів. Відомо, що саме антиоксидантні та цитопротекторні властивості вітаміну Е сприяють попередженню Cr(VI)-індукованого зниження кількості лейкоцитів. Вітамін Е – це природний компонент ліпідного бішару, який підтримує стабільність мембрани клітин крові, запобігає окисненню її ліпідних та протеїнових компонентів. Вітамін Е віддає власний електрон для стабілізації вільних радикалів, АФО і як наслідок знижує

інтенсивність оксидативного стресу та захищає жиророзчинні компоненти мембран, холестерол, ЛПНЩ [25; 124].

Важливою метаболічною ланкою, яка досліджувалася був протеїновий обмін, що регулює вміст структурних та функціональних протеїнів у біологічних тканинах, підтримує рівень ензимів необхідних для каталізу біохімічних реакцій. Метаболізм протеїнів пов'язаний з внутрішньоклітинною, міжклітинною сигналізацією та енергетичним обміном [160]. Встановлено, що вплив Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти днів спричиняв зниження рівня загального протеїну у плазмі крові щурів. Літературні дані підтверджують отримані нами результати та описують зниження концентрації загального протеїну крові після інтоксикації Cr(VI) за рахунок помітного зниження кількості альбумінів та менш значного зниження рівня глобулінів [258]. Cr(VI) спричиняє ушкодження тканини нирок з подальшим розвитком нефрозу [68; 258] та протеїнурії, що може бути причиною зниження концентрації загального протеїну крові за рахунок накопичення його вмісту у сечі [232; 247]. Зниження вмісту загального протеїну за дії Cr(VI) є підтвердженням деградуючого впливу досліджуваного важкого металу на процеси біосинтезу [68; 101; 236; 258]. Cr(VI) пригнічує анаболічні шляхи, активує процеси окиснення та катаболізму протеїнів за рахунок стимуляції вільнорадикальних процесів [101; 211]. Сульфгідрильні групи протеїнів (цистеїнових залишків) піддаються Cr(VI)-індукованому окисненню з подальшим формуванням дисульфідів, що спричиняє порушення окисно-відновних та функціональних властивостей протеїнів [69]. Можливо, наведені вище аспекти негативного впливу Cr(VI) можуть бути причиною зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові щурів за умов інтоксикації  $K_2Cr_2O_7$ .

Попередній поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС частково компенсував Cr(VI)-індуковане зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові щурів. Відомо, що вільнорадикальні процеси є головним механізмом деградуючого впливу Cr(VI) по відношенню до органічних макромолекул та протеїнів зокрема. Вітамін Е здатний знижувати інтенсивність процесів окисного ушкодження та деградації протеїнів шляхом пригнічення Cr(VI)-індукованих процесів генерації АФО [266], що може бути

причиною менш інтенсивного зниження рівня загального протеїну у плазмі крові Cr(VI) інтоксикованих щурів за умов поєданого впливу вітаміну E та ETC.

Амінотрансферази плазми крові – це основна група ензимів, які каталізують реакції трансамінування у ході яких відбувається швидке оборотне взаємоперетворенням амінокислот та оксокислот шляхом перенесенням аміногрупи ( $\text{NH}_2$ )  $\alpha$ -амінокислот до молекули  $\alpha$ -кетокислоти ( $\text{RCOCOON}$ ). АлАТ – це цитозольний ензим, який присутній переважно у печінці, а висока активність АлАТ у сироватці прийнято вважати як важливий показник гепатоцелюлярної токсичності. Оскільки АлАТ знаходиться в цитозолі гепатоцитів, його підвищення в сироватці крові зазвичай вказує на порушення цілісності мембрани гепатоцитів. АсАТ є менш специфічним біомаркером ураження печінки у порівнянні з АлАТ. Зазвичай оцінка активності сироваткової АсАТ використовується для моніторингу та діагностики захворювань печінки, жовчних шляхів, інфаркту міокарда, ушкодження скелетної мускулатури [306]. Отримані нами результати досліджень свідчать про те, що токсична дія  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  призводить до підвищення активності амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) у плазмі крові дослідних щурів [68; 295]. Збільшення активності АлАТ, АсАТ пояснюється високою гепатотоксичністю Cr(VI). Дія Cr(VI) супроводжується пошкодженням клітинних мембран гепатоцитів, порушенням проникності та транспортної функції, після чого амінотрансферази потрапляють у плазму крові, де їх активність суттєво зростає [101]. Очевидно, що саме ці механізми відіграють ключову роль у зміні активності амінотрансфераз плазми крові за умов  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -індукованого оксидативного ушкодження печінки [68]. Cr(VI) підвищує рівень ацетильованого NF- $\kappa$ B-p65 і посилює експресію прозапальних факторів IL-1 $\beta$  та TNF- $\alpha$  шляхом пригнічення Sirt1-деацетилазної активності у печінці, що призводить до активації запальних процесів. Як наслідок, відповідні зміни призводять до надмірного апоптозу гепатоцитів шляхом індукування спалаху оксидативного стресу [294]. Таким чином, зміна активності амінотрансфераз крові є важливим показником структурного та функціонального стану печінки за умов інтоксикації Cr(VI). Крім цього, Cr(VI)-індукована активацію запальних процесів у печінці та нирках зумовлює зниження коефіцієнту де Рітца шляхом підвищення ензиматичної активності АлАТ у плазмі

крові [41; 174]. У більшості випадків гепатоцелюлярної токсичності та гепатопатії рівень АЛАТ у сироватці крові підвищується більш інтенсивно у порівнянні з АсАТ, що власне і є причиною зниження коефіцієнту де Рітіса [196]. Коефіцієнт де Рітіса вважається важливим індикатором ушкодження гепатоцитів, гепатотоксичності та порушення функцій печінки [166; 306]. Зокрема, коефіцієнт де Рітіса використовують як індикатор морфофункціональних уражень печінки та виділення органоспецифічних маркерів цитолізу гепатоцитів у тварин за токсичної дії важких металів та за умов індукованого оксидативного стресу [156]. Експериментальні дані свідчать про те, що ураження печінки середнього та важкого ступеня характеризується коефіцієнтами де Рітіса  $< 1,0$  [306].

Отримані нами результати узгоджуються з дослідженнями інших авторів про те, що дія  $K_2Cr_2O_7$ -індукованого оксидативного стресу призводять до активації ЛФ (лужної фосфатази) у плазмі крові лабораторних щурів [41; 101; 235]. Підвищення рівня ЛФ крові є індикатором цитотоксичності в організмі щурів за умов впливу важких металів та Cr(VI) зокрема. Причиною посилення ензиматичної активності ЛФ за дії Cr(VI) можуть бути запальні процеси у тканині печінки та нирок, які супроводжуються клітинними пошкодженнями, апоптозом та некрозом. Дія Cr(VI) призводить до дисфункції, зміни проникності та ушкодження клітинної мембрани гепатоцитів, що може бути причиною мембранної деінтеграції ЛФ гепатоцитів з подальшим переміщенням цього ензиму у кров [41; 195; 247].

Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС знижував інтенсивність Cr(VI)-індукованого дисбалансу активності амінотрансфераз (АЛАТ, АсАТ) та ЛФ у крові щурів за обох періодів інтоксикації. Відомо, що основною причиною гіперактивації амінотрансфераз та ЛФ у плазмі крові тварин за токсичної дії  $K_2Cr_2O_7$  найімовірніше є порушення проникності та цілісності плазмалеми гепатоцитів у результаті Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [68; 195]. Тому, саме потенційні гепатопротекторні, мембранопротекторні та антиоксидантні властивості вітаміну Е та ЕТС можуть бути залучені у стабілізації активності амінотрансфераз крові щурів за умов  $K_2Cr_2O_7$ -індукованої токсичності. Зокрема, вітамін Е відіграє ключову роль у підтриманні стабільності клітинних мембран та є важливим природним компонентом



ліпідного бішару. Цей вітамін вважається першою лінією захисту за умов активації процесів ПОЛ та вберігає клітинні мембрани на ранніх стадіях активації вільних радикалів [124]. Дослідження Kandpal та ін. [123] свідчать про те, що антиоксидантний ефект вітаміну Е захищає печінку курчат від токсичного впливу  $K_2Cr_2O_7$ . Крім цього, вітамін Е стабілізує активність АлАТ, АсАТ та ЛФ у плазмі крові та попереджає гістопатологічні зміни печінки щурів, шляхом зниження інтенсивності ПОЛ та активації ензимів АОЗ у тканинах за умов інтоксикації важкими металами та Cr(VI) зокрема [25; 71].

Сульфуроорганічні БАР, які є природними аналогами ЕТС, виконують роль ефективних гепатопротекторів. Зокрема, діалілтіосульфонат, знижує рівня ТБК-активних продуктів, інгібує прозапальні сигнальні шляхи, попереджає деструктивні зміни, процеси некрозу та апоптозу за умов оксидативного стресу у печінці мишей шляхом активації сигнальних шляхів Bcl-2 та Ki-67. Як наслідок, активність АлАТ, АсАТ та ЛФ у плазмі крові мишей стабілізується у відповідь на позитивний гепатопротекторний вплив діалілтіосульфонату [235]. Відомо, що діалілтіосульфонат та вітамін Е сприяють стабілізації активності АлАТ та АсАТ плазми крові шляхом активації сигнальних шляхів Keap1/Nrf2 та пригнічення Nk-kB/Бах, що призводить до активації системи АОЗ та цитопротекторних механізмів у гепатоцитах [76; 293]. Можливо, саме антиоксидантні і гепатопротекторні властивості ЕТС та вітаміну Е, можуть сприяти стабілізації активності амінотрансфераз та ЛФ крові щурів шляхом пригнічення прооксидантних процесів у тканині печінки.

Встановлено, що внутрішньоочеревинне 14-ти добове введення Cr(VI) призводило до значної акумуляції Хрому у печінці щурів у порівнянні з контролем. Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури про те, що внутрішньоочеревинне введення розчину  $K_2Cr_2O_7$  призводить до підвищення рівня Хрому у печінці щурів, що тісно пов'язано з розвитком гістопатологічних змін, підвищенням концентрації продуктів ПОЛ, пригніченням ензимів системи АОЗ, посиленням експресії проапоптичних протеїнів та розвитком стану СЕР [303]. Акумуляція Хрому стимулює гіперекспресію протеїну Drp1 у гепатоцитах, що спричиняє порушення стабільності та цілісності мітохондрій з наступним

дисбалансом процесів окисного фосфорилування та розвитком стану оксидативного стресу у клітинах печінки [300]. Попередній вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв зниженню відсоткового накопичення Хрому у тканині печінки щурів за умов 14-ти добової дії Cr(VI). Zhao та ін. [304] повідомляють, що неензиматичний антиоксидант ВГ знижує інтенсивність акумуляції Cr(VI) у печінці шляхом зв'язування відповідного важкого металу з подальшим формуванням біологічно інертних комплексів. Нами зареєстровано достовірну акумуляцію ВГ у печінці щурів, яким вводили ЕТС окремо або у поєднанні з вітаміном Е за умов 14-ти добового впливу Cr(VI) [140; 142], що може бути причиною зниження рівня акумуляції Cr(VI) у тканині печінки. Комплекси ВГ-Cr(VI) відновлюються до ВГ-Cr(III), які в подальшому виводяться з організму через нирки [37]. Усі типи клітин продукують ВГ однак, основним місцем його синтезу в організмі є гепатоцити [88; 241] та еритроцити [241]. Значна частина ВГ експортується клітинами через плазматичну мембрану в позаклітинний простір, особливо за умов оксидативного стресу [88]. Cr(VI) за участі ВГ зв'язується та відновлюється у позаклітинному просторі до менш реакційноздатної форми ВГ-Cr(III), що сповільнює процеси акумуляції Хрому клітинами та сприяє пришвидшенню процесів екскреції відповідного металу через нирки [89; 251].

Таким чином, вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв відсотковому зниженню акумуляції продуктів ПОЛ та КГП, частковій нормалізації показників системи АОЗ у крові, печінці, нирках та окремих параметрів ліпідного, протеїнового обміну у крові щурів за умов  $K_2Cr_2O_7$ -індукованої токсичності.

## ВИСНОВКИ

У дисертації представлено нове вирішення наукової проблеми запобігання розвитку Cr(VI)-індукованої токсичності організму шляхом дії етилтіосульфанілату (ЕТС) і вітаміну Е. З'ясовано позитивний ефект етилтіосульфанілату окремо та у поєднанні з вітаміном Е на досліджувані ланки ліпідного та протеїнового обміну, часткову стабілізацію активності ензимів системи АОЗ, зниження інтенсивності процесів окисної модифікації ліпідів, протеїнів та зниження гемато-, гепато- та нефротоксичності в організмі щурів за умов 7- і 14-ти добової Cr(VI)-індукованої інтоксикації.

1. Встановлено, що дія Cr(VI) зумовлювала виникнення оксидативного стресу шляхом активації процесів окисного ушкодження ліпідів та протеїнів у крові, печінці та нирках щурів з більш вираженим токсичним ефектом після 14-ти добової інтоксикації, порівняно із 7-ми добовою. Попередній вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв зниженню інтенсивності накопичення ГПЛ, ТБК-активних продуктів, КГП у плазмі крові та тканинах щурів за умов тривалішої інтоксикації, що може свідчити про пригнічення Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу в організмі лабораторних щурів.

2. З'ясовано, що дія  $K_2Cr_2O_7$  протягом 7- і 14-ти діб порушувала баланс ключових антиоксидантних ензимів СОД та КАТ в еритроцитах, печінці та нирках щурів. ЕТС і вітамін Е частково нормалізували Cr(VI)-індуковані порушення активності ензимів системи АОЗ. Зокрема, ЕТС знижував рівень гіперактивації СОД у нирках за 7-ми добової токсичності та КАТ – в еритроцитах за обох періодів інтоксикації. Вплив ЕТС у поєднанні з вітаміном Е сприяв зниженню гіперактивації СОД в еритроцитах щурів за умов 14-ти добової токсичності Cr(VI).

3. Встановлено, що за 7-ми добової інтоксикації Cr(VI) компенсаторно активувалася глутатіонова ланка АОЗ в еритроцитах, в той час як за 14-ти добової дії Cr(VI) виявлено виснаження пулу ВГ та ГР активності в еритроцитах, печінці та нирках тварин. Попередній вплив ЕТС запобігав 14-ти добовій Cr(VI)-індукованій інактивації глутатіонової ланки АОЗ за рахунок активації ГР та акумуляції запасів ВГ в еритроцитах щурів. Вплив ЕТС у поєднанні з вітаміном Е запобігав виснаженню

пулу ВГ в еритроцитах та досліджуваних тканинах і сприяв частковому відновленню ГП активності в еритроцитах за обох періодів інтоксикації.

4. З'ясовано, що токсичний ефект  $K_2Cr_2O_7$  спричиняв підвищення вмісту загальних ліпідів, холестеролу та порушення відсоткового співвідношення ліпідних та фосфоліпідних класів у плазмі крові щурів. Вплив ЕТС сприяв частковій стабілізації показників загальних ліпідів та холестеролу в крові за умов 14-ти добової дії Cr(VI). Поєднаний вплив вітаміну Е та ЕТС частково нормалізував зміни вмісту фосфоліпідів, неестерифікованих жирних кислот, фосфатидилхоліну, лізофосфатидилхоліну в плазмі крові щурів за 14-ти добової дії Cr(VI).

5. З'ясовано, що токсичний ефект  $K_2Cr_2O_7$  спричиняв дисбаланс досліджуваних показників метаболізму протеїнів шляхом гіперактивації АлАТ, АсАТ, ЛФ, підвищення концентрації креатиніну, сечовини та зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові за обох періодів інтоксикації Cr(VI). Попередній вплив ЕТС частково стабілізував показники АлАТ, ЛФ та сечовини за умов 7-ми добової інтоксикації, а також інгібував процеси підвищення концентрації креатиніну та сечовини у плазми крові щурів після 14-ти добового впливу Cr(VI). Поєднана дія ЕТС та вітаміну Е сприяла частковій нормалізації АлАТ, АсАТ, ЛФ активності після обох періодів інтоксикації та інгібувала процеси підвищення рівня креатиніну, сечовини та зниження вмісту загального протеїну у плазмі крові щурів за умов 14-ти добової токсичності.

6. Встановлено, що Cr(VI) спричиняв гематотоксичний ефект за рахунок зниження числа еритроцитів, лейкоцитів та вмісту гемоглобіну у крові тварин з більш вираженим негативним ефектом за умов 14-ти добової дії. Попередній вплив ЕТС сприяв нормалізації показників кількості еритроцитів, а поєднаний вплив вітаміну Е і ЕТС запобігав зниженню кількості лейкоцитів за умов 14-ти добової токсичної дії  $K_2Cr_2O_7$ .

7. Застосування ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяло зниженню рівня акумуляції Хрому у печінці щурів за умов 14-ти добового впливу Cr(VI). Причому найнижчі показники накопичення Хрому у печінці Cr(VI)-інтоксикованих щурів спостерігався саме за поєднаної дії ЕТС та вітаміну Е.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abdel-Daim, M. M., Abushouk, A. I., Donia, T., Alarifi, S., Alkahtani, S., Aleya, L., & Bungau, S. G. (2019). The nephroprotective effects of allicin and ascorbic acid against cisplatin-induced toxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 13502–13509. doi:10.1007/s11356-019-04780-4
2. Abdi-Azar, H., & Maleki, S. (2014). Comparison of the anesthesia with thiopental sodium alone and their combination with Citrus aurantium L.(Rutaseae) essential oil in male rat. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci*, 3: 37–44.
3. Abrass, C. K. (2004). Cellular lipid metabolism and the role of lipids in progressive renal disease. *American journal of nephrology*, 24(1): 46–53. doi: 10.1159/000075925
4. Abu Zeid, E. H., Hussein, M. M., & Ali, H. (2018). Ascorbic acid protects male rat brain from oral potassium dichromate-induced oxidative DNA damage and apoptotic changes: the expression patterns of caspase-3, P 53, Bax, and Bcl-2 genes. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 13056–13066. doi: 10.1007/s11356-018-1546-9
5. Acharya, M., & Lau-Cam, C. A. (2013). Comparative evaluation of the effects of taurine and thiotaurine on alterations of the cellular redox status and activities of antioxidant and glutathione-related enzymes by acetaminophen in the rat. *Taurine* 8, 2: 199–215. doi: 10.1007/978-1-4614-6093-0\_20
6. Adeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., & Christiania, O. (2018). Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *JBRA assisted reproduction*, 22(1): 61–66. doi: 10.5935/1518-0557.20180003
7. Adi, P. J., Burra, S. P., Vataparti, A. R., & Matcha, B. (2016). Calcium, zinc and vitamin E ameliorate cadmium-induced renal oxidative damage in albino Wistar rats. *Toxicology reports*, 3: 591–597. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.07.005
8. Agrawal, I., Lim, Y. S., Ng, S. Y., & Ling, S. C. (2022). Deciphering lipid dysregulation in ALS: from mechanisms to translational medicine. *Translational Neurodegeneration*, 11(1), 1–27. doi: 10.1186/s40035-022-00322-0

9. Ahmad, M. K., Syma, S., & Mahmood, R. (2011). Cr(VI) induces lipid peroxidation, protein oxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in human erythrocytes. *Biological trace element research*, 144: 426–435. doi: 10.1007/s12011-011-9119-5
10. Ahmad, W. M. A. W., Ahmed, F., Noor, N. F. M., Aleng, N. A., Ghazali, F. M. M., & Alam, M. K. (2022). Prediction and Elucidation of Triglycerides Levels Using a Machine Learning and Linear Fuzzy Modelling Approach. *BioMed Research International*, 2022: 7511806. doi: 10.1155/2022/7511806
11. Ahyayauch, H., García-Arribas, A. B., Sot, J., González-Ramírez, E. J., Busto, J. V., Monasterio, B. G., Jiménez-Rojo, N., Contreras, F. X., Rendón-Ramírez, A., Martín, C., Alonso, A., & Goñi, F. M. (2018). Pb (II) induces scramblase activation and ceramide-domain generation in red blood cells. *Scientific Reports*, 8(1): 7456. doi: 10.1038/s41598-018-25905-8.
12. Al Shoyaib, A., Archie, S. R., & Karamyan, V. T. (2020). Intraperitoneal route of drug administration: should it be used in experimental animal studies?. *Pharmaceutical research*, 37(1): 12. doi:10.1007/s11095-019-2745-x
13. Alare K., Alare T., (2020) Review of Toxicity of Allicin from Garlic. *J. Pharmaceutics and Pharmacology Research*, 3(3): 1–2 doi: 10.31579/2693-7247/021
14. Alijagic, A., Islamagic, E., Focak, M., & Suljevic, D. (2018). Effects of trivalent and hexavalent dietary chromium on blood biochemical profile in Japanese quails. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(4): 470–477. doi: 10.15547/bjvm.1095
15. Alper, G., Çinar, M., Can, C., Menteş, G., Ersöz, B., & Evinç, A. (1998). The effects of vitamin E on catalase activities in various rat tissues. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 28(2): 127–132.
16. Alya, A., Ines, D. B., Montassar, L., & Najoua, G. (2015). Oxidative stress, biochemical alterations, and hyperlipidemia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(10): 1034–1043. doi: 10.1155/2022/7511806

17. Ambrogi, V., Carfagna, C., Cerruti, P., & Marturano, V. (2017). Additives in polymers. *In Modification of polymer properties* (pp. 87–108). William Andrew Publishing.
18. Anandasadagopan, S. K., Sundaramoorthy, C., Pandurangan, A. K., Nagarajan, V., Srinivasan, K., & Ganapasam, S. (2017). S-Allyl cysteine alleviates inflammation by modulating the expression of NF- $\kappa$ B during chromium (VI)-induced hepatotoxicity in rats. *Human & experimental toxicology*, 36(11): 1186–1200. doi: 10.1177/0960327116680275
19. Anyanwu, B. O., Orish, C. N., Ezejiolor, A. N., Nwaogazie, I. L., & Orisakwe, O. E. (2020). Protective effect of *Costus afer* aqueous leaf extract (CALE) on low-dose heavy metal mixture-induced alterations in serum lipid profile and hematological parameters of male *Wistar albino* rats. *Journal of Toxicology*, 2020. 8850264. doi: 10.1155/2020/8850264
20. Asantewaa, G., & Harris, I. S. (2021). Glutathione and its precursors in cancer. *Current Opinion in Biotechnology*, 68: 292–299. doi: 10.1016/j.copbio.2021.03.001
21. Atmaca, G. (2004). Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei medical journal*, 45(5): 776–788.
22. Atsumi, H., Kitada, M., Kanasaki, K., & Koya, D. (2011). Reversal of redox-dependent inhibition of diacylglycerol kinase by antioxidants in mesangial cells exposed to high glucose. *Molecular Medicine Reports*, 4(5): 923–927. doi: 10.3892/mmr.2011.524
23. Awadalla, A., Mahdi, M. R., Zahran, M. H., Abdelbaset-Ismail, A., El-Dosoky, M., & Negm, A. (2022). Baicalein and Alpha-Tocopherol Inhibit Toll-like Receptor Pathways in Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Molecules*, 27(7): 2179. . doi: 10.3390/molecules27072179
24. Azadmanesh, J., & Borgstahl, G. E. (2018). A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants*, 7(2): 25. doi: 10.3390/antiox7020025
25. Balakrishnan, R., Kumar, C. S. S., Rani, M. U., Srikanth, M. K., Boobalan, G., & Reddy, A. G. (2013). An evaluation of the protective role of  $\alpha$ -tocopherol on free

- radical induced hepatotoxicity and nephrotoxicity due to chromium in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 45(5): 490–495. doi: 10.1016/j.jare.2021.04.002
26. Balakrishnan, R., Kumar, C. S. V., Rani, M., Kavita, K., Boobalan, G., & Reddy, A. (2013). Evaluation of protective action of  $\alpha$ -tocopherol in chromium-induced oxidative stress in female reproductive system of rats. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 4(1): 87–93. doi: 10.4103/0976-9668.107266
27. Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in pharmacology*, 12: 643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972
28. Baseggio Conrado, A., Capuozzo, E., Mosca, L., Francioso, A., & Fontana, M. (2019). Thiotaaurine: from chemical and biological properties to role in H<sub>2</sub>S signaling. *Taurine 11*, 755–771. doi: 10.1007/978-981-13-8023-5\_66
29. Bashandy, S. A., Salama, A., Fayed, A. M., Omara, E. A., El-Toumy, S. A., & Salib, J. Y. (2020). Protective effect of mandarin (*Citrus reticulata*) peel extract on potassium dichromate induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Plant Arch*, 20(1): 2231–2242.
30. Becerra-Torres, S. L., Soria-Fregozo, C., Jaramillo-Juárez, F., & Moreno-Hernández-Duque, J. L. (2014). *Allium sativum* aqueous extract prevents potassium dichromate-induced nephrotoxicity and lipid oxidation in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2(2): 45–52.
31. Bienias, K., Fiedorowicz, A., Sadowska, A., Prokopiuk, S., & Car, H. (2016). Regulation of sphingomyelin metabolism. *Pharmacological Reports*, 68(3): 570–581. doi: 10.1016/j.pharep.2015.12.008
32. Biswas, D., Duffley, L., & Pulinilkunnil, T. (2019). Role of branched-chain amino acid–catabolizing enzymes in intertissue signaling, metabolic remodeling, and energy homeostasis. *The FASEB Journal*, 33(8): 8711–8731. doi: 10.1096/fj.201802842RR
33. Bojarski, B., Buchko, O., Kondera, E., Ługowska, K., Osikowski, A., Trela, M., Witeska, M., & Lis, M. W. (2021). Effects of embryonic exposure to chromium (VI) on blood parameters and liver microstructure of 1-day-old chickens. *Poultry science*, 100(1): 366–371. doi: 10.1016/j.psj.2020.10.016



34. Bononi, G., Granchi, C., Lapillo, M., Giannotti, M., Nieri, D., Fortunato, S., Boustani, M. E., Caligiuri, I., Poli, G., Carlson, K. E., Kim, H. S., Macchia, M., Martinelli, A., Rizzolio, F., Chicca, A., Katzenellenbogen, J. A., Minutolo, F., & Tuccinardi, T. (2018). Discovery of long-chain salicylketoxime derivatives as monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 157: 817–836. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.08.038
35. Boşgelmez, İ. İ. (2021). An overview on the potential mechanisms of action of N-acetyl-L-cysteine in hexavalent chromium-induced toxicity. *Toxicology*, 397–408. doi: 10.1016/B978-0-12-819092-0.00039-X
36. Boşgelmez, I. I., & Güvendik, G. (2004). Effects of taurine on oxidative stress parameters and chromium levels altered by acute hexavalent chromium exposure in mice kidney tissue. *Biological trace element research*, 102: 209–225. doi: 10.1385/BTER:102:1-3:209
37. Boşgelmez, İ. İ., & Güvendik, G. (2017). N-acetyl-L-cysteine protects liver and kidney against chromium (VI)-induced oxidative stress in mice. *Biological Trace Element Research*, 178(1): 44–53. doi: 10.1007/s12011-016-0901-2
38. Boşgelmez, İ. İ., & Güvendik, G. (2019). Beneficial effects of N-acetyl-L-cysteine or taurine pre-or post-treatments in the heart, spleen, lung, and testis of hexavalent chromium-exposed mice. *Biological Trace Element Research*, 190(2): 437–445. doi: 10.1007/s12011-018-1571-z
39. Boşgelmez, İ. İ., Söylemezoğlu, T., & Güvendik, G. (2008). The protective and antidotal effects of taurine on hexavalent chromium-induced oxidative stress in mice liver tissue. *Biological trace element research*, 125(1): 46–58. doi: 10.1007/s12011-008-8154-3
40. Buchko, O., & Havryliak, V. (2021). Effect of the supplement of humic origin on the free radical processes and histological changes in the tissues of rats affected by Chromium (VI). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3): 10996–11008. doi: 10.33263/BRIAC113.1099611008
41. Buchko, O., Havryliak, V., Pylypets, A., & Buchko, T. (2021). Effect of food supplement of humic origin on the hematological and biochemical parameters in the

- Cr(VI) exposed rats. *Journal of research in pharmacy*, 25(3): 271–276. doi: 10.29228/jrp.17
42. Calzada, E., Onguka, O., & Claypool, S. M. (2016). Phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *International review of cell and molecular biology*, 321: 29–88. doi: 10.1016/bs.ircmb.2015.10.001
43. Cao, X., Wang, S., Bi, R., Tian, S., Huo, Y., & Liu, J. (2019). Toxic effects of Cr (VI) on the bovine hemoglobin and human vascular endothelial cells: Molecular interaction and cell damage. *Chemosphere*, 222: 355–363. doi: 10.1177/074823371770389
44. Carlberg, I., Mannervik, B. (1985). Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, 113: 484–90.
45. Casati, M., Boccardi, V., Ferri, E., Bertagnoli, L., Bastiani, P., Ciccone, S., Mansi, M., Scamosci, M., Rossi, P. D., Mecocci, P., & Arosio, B. (2020). Vitamin E and Alzheimer's disease: the mediating role of cellular aging. *Aging clinical and experimental research*, 32: 459–464. doi: 10.1007/s40520-019-01209-3
46. Chakraborty, R., Renu, K., Eladl, M. A., El-Sherbiny, M., Elsherbini, D. M. A., Mirza, A. K., Vellingiri, B., Lyer, M., Dey, A., & Gopalakrishnan, A. V. (2022). Mechanism of chromium-induced toxicity in lungs, liver, and kidney and their ameliorative agents. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151: 113–119. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113119
47. Chandra, V., Jasti, J., Kaur, P., Betzel, C., Srinivasan, A., & Singh, T. P. (2002). First structural evidence of a specific inhibition of phospholipase A2 by  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) and its implications in inflammation: Crystal structure of the complex formed between phospholipase A2 and  $\alpha$ -tocopherol at 1.8 Å resolution. *Journal of molecular biology*, 320(2): 215–222. doi: 10.1016/S0022-2836(02)00473-4
48. Chauvin, J. P. R., Griesser, M., & Pratt, D. A. (2019). The antioxidant activity of polysulfides: it's radical!. *Chemical science*, 10(19): 4999–5010. doi: 10.1039/C9SC00276F
49. Chen, D., Kluz, T., Fang, L., Zhang, X., Sun, H., Jin, C., & Costa, M. (2016). Hexavalent chromium (Cr(VI)) down-regulates acetylation of histone H4 at lysine 16

- through induction of stressor protein Nupr1. *PloS one*, 11(6): e0157317. doi.org/10.1371/journal.pone.0157317
50. Chen, L., Chen, X. W., Huang, X., Song, B. L., Wang, Y., & Wang, Y. (2019). Regulation of glucose and lipid metabolism in health and disease. *Science China Life Sciences*, 62(11): 1420–1458. doi: 10.1007/s11427-019-1563-3
  51. Chen, Q. Y., Murphy, A., Sun, H., & Costa, M. (2019). Molecular and epigenetic mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis. *Toxicology and applied pharmacology*, 377: 114636. doi: 10.1016/j.taap.2019.114636
  52. Cheng, B., Li, T., & Li, F. (2021). Use of network pharmacology to investigate the mechanism by which allicin ameliorates lipid metabolism disorder in HepG2 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021: 3956504 doi: 10.1155/2021/3956504
  53. Chon, S. H., Zhou, Y. X., Dixon, J. L., & Storch, J. (2007). Intestinal monoacylglycerol metabolism: developmental and nutritional regulation of monoacylglycerol lipase and monoacylglycerol acyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*, 282(46): 33346–33357. doi: 10.1074/jbc.M706994200
  54. Clarke, M. W., Burnett, J. R., & Croft, K. D. (2008). Vitamin E in human health and disease. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 45(5): 417–450. doi: 10.1080/10408360802118625
  55. Claycombe, K. J., & Meydani, S. N. (2001). Vitamin E and genome stability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 475(1-2): 37–44. doi: 10.1016/S0027-5107(01)00077-X
  56. Clement, A. B., Hawkins, E. G., Lichtman, A. H., & Cravatt, B. F. (2003). Increased seizure susceptibility and proconvulsant activity of anandamide in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Journal of Neuroscience*, 23(9): 3916–3923. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-09-03916.2003
  57. Cohen, M. D., Kargacin, B., Klein, C. B., & Costa, M. (1993). Mechanisms of chromium carcinogenicity and toxicity. *Critical reviews in toxicology*, 23(3), 255–281. doi: 10.3109/10408449309105012

58. Cuevas-Magaña, M. Y., Vega-García, C. C., León-Contreras, J. C., Hernández-Pando, R., Zazueta, C., & García-Niño, W. R. (2022). Ellagic acid ameliorates hexavalent chromium-induced renal toxicity by attenuating oxidative stress, suppressing TNF- $\alpha$  and protecting mitochondria. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 454: 116242. doi: 10.1016/j.taap.2022.116242
59. Dalmizrak, O., Teralı, K., Asuquo, E. B., Ogus, I. H., & Ozer, N. (2019). The relevance of glutathione reductase inhibition by fluoxetine to human health and disease: Insights derived from a combined kinetic and docking study. *The Protein Journal*, 38(5): 515–524. doi: 10.1007/s10930-019-09834-7
60. Day, B. J. (2009). Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochemical pharmacology*, 77(3): 285–296. doi: 10.1016/j.bcp.2008.09.029
61. DeLoughery, Z., Luczak, M. W., Ortega-Atienza, S., & Zhitkovich, A. (2015). DNA double-strand breaks by Cr(VI) are targeted to euchromatin and cause ATR-dependent phosphorylation of histone H2AX and its ubiquitination. *Toxicological Sciences*, 143(1): 54–63. doi: 10.1093/toxsci/kfu207
62. DesMarias, T. L., & Costa, M. (2019). Mechanisms of chromium-induced toxicity. *Current opinion in toxicology*, 14: 1–7. doi: 10.1016/j.cotox.2019.05.003
63. Dey, S. K. (2022). Antagonistic effects of *Andrographis paniculata* methalonic extract on chromium-induced membrane damage in male Albino rats. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 18(2): 96–105.
64. Dey, S. K., & Roy, S. (2010). Role of GSH in the amelioration of chromium-induced membrane damage. *Toxicological & Environ Chemistry*, 92(2): 261–269. doi: 10.1080/02772240902955669
65. Dhara, P. C., Dhundasi, S. A., & Das, K. K. (2009). Effect of garlic (*Allium sativum*) on nickel II or chromium VI induced alterations of glucose homeostasis and hepatic antioxidant status under sub-chronic exposure conditions. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 20(1): 1–14. doi: 10.1515/jbcpp.2009.20.1.1
66. Ebhohimen, I. E., Okanlawon, T. S., Osagie, A. O., & Izevbogie, O. N. (2021). Vitamin E in Human Health and Oxidative Stress Related Diseases. In *Vitamin E in*

Health and Disease-Interactions, Diseases and Health Aspects. (Vol. 57: pp. 239–259)  
*IntechOpen*. doi:10.5772/intechopen.99169

67. Ejoh, S. A., Iheagwam, F. N., & Olusola, A. O. (2021). Potassium dichromate-induced hepato-and hematotoxicity in rats: nutritive composition and ameliorative role of *Acacia nilotica* L. leaf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 16(2): e104346. doi: 10.5812/jjnpp.104346
68. El-Demerdash, F. M., El-Sayed, R. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Hepatoprotective potential of *Rosmarinus officinalis* essential oil against hexavalent chromium-induced hematotoxicity, biochemical, histological, and immunohistochemical changes in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 17445–17456. doi: 10.1007/s11356-020-12126-8
69. El-Demerdash, F. M., El-Sayed, R. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). *Rosmarinus officinalis* essential oil modulates renal toxicity and oxidative stress induced by potassium dichromate in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 67: 126791. doi: 10.1016/j.jtemb.2021.126791
70. El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., & Elaswad, F. A. (2006). Biochemical study on the protective role of folic acid in rabbits treated with chromium (VI). *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 41(5): 731–746. doi: 10.1080/03601230600704282
71. El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., Kedwany, F. S., & Baghdadi, H. H. (2004). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and  $\beta$ -carotene. *Food and chemical toxicology*, 42(10): 1563–1571. doi:10.1016/j.fct.2004.05.001
72. Eleryan, A., El Nemr, A., Idris, A. M., Alghamdi, M. M., El-Zahhar, A. A., Said, T. O., & Sahlabji, T. (2021). Feasible and eco-friendly removal of hexavalent chromium toxicant from aqueous solutions using chemically modified sugarcane bagasse cellulose. *Toxin reviews*, 40(4): 835–846. doi: 10.1080/15569543.2020.1790606
73. Eman, S., & Farag, A. I. (2020). Chromium-induced hepatotoxicity and potential protective effect of selenium in adult male albino rat: a histological, immuno-

- histochemical and molecular study. *The Medical Journal of Cairo University*, 88(3): 187–196. doi: 10.21608/mjcu.2020.93977
74. Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., Nwalo, F. N., & Unachukwu, M. N. (2019). Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. *Poisoning in the modern world-new tricks for an old dog*, 10: 7090. doi:10.5772/intechopen.82511
75. Fan, H. J., Tan, Z. B., Wu, Y. T., Feng, X. R., Bi, Y. M., Xie, L. P., Zhang, W. T., Ming, Z., Liu, B., & Zhou, Y. C. (2020). The role of ginsenoside Rb1, a potential natural glutathione reductase agonist, in preventing oxidative stress-induced apoptosis of H9C2 cells. *Journal of Ginseng Research*, 44(2): 258–266. doi: 10.1016/j.jgr.2018.12.004
76. Fang, J., Yin, H., Yang, Z., Tan, M., Wang, F., Chen, K., Zuo, Z., Shu, G., Cui, H., Ouyang, P., Guo, H., Chen, Z., Huang, C., Geng, Y., & Liu, W. (2021). Vitamin E protects against cadmium-induced sub-chronic liver injury associated with the inhibition of oxidative stress and activation of Nrf2 pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208: 111610. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111610
77. Fedala, A., Adjroud, O., Abid-Essefi, S., & Timoumi, R. (2021). Protective effects of selenium and zinc against potassium dichromate-induced thyroid disruption, oxidative stress, and DNA damage in pregnant Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 22563–22576. doi: 10.1007/s11356-020-12268-9
78. Fedala, A., Adjroud, O., Bennoune, O., Abid-Essefi, S., Foughalia, A., & Timoumi, R. (2022). Nephroprotective efficacy of selenium and zinc against potassium dichromate-induced renal toxicity in pregnant wistar albino rats. *Biological Trace Element Research*, 200(11): 4782–4794. doi: 10.1007/s12011-021-03069-3
79. Feng, H., Feng, Q., Xiao, T., Liu, T., Guan, B., Firdous, S. M., & Huang, J. (2021). Ipomoea staphylina Attenuates Potassium Dichromate-Induced Nephrotoxicity in Wistar Rats via Antioxidant and Antiapoptotic Effects. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 499: 289–295. doi: 10.1134/S1607672921040074
80. Feng, H., Ha, F., Hu, G., Wu, Y., Yu, S., Ji, Z., Feng, W., Wang, T., & Jia, G. (2018). Concentration of chromium in whole blood and erythrocytes showed different relationships with serum apolipoprotein levels in Cr(VI) exposed subjects. *Journal of*

*Trace Elements in Medicine and Biology*, 50: 384–392. doi: 10.1016/j.jtemb.2018.08.003

81. Feng, H., Liu, J., Hu, G., & Jia, G. (2018). The role of epigenetics in the toxic effects induced by hexavalent chromium. *Reactive Oxygen Species*, 5(14): 107–117. doi: 10.20455/ros.2018.821
82. Folch, J., Lees, M., Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1): 497–509.
83. Franklin, C. C., Backos, D. S., Mohar, I., White, C. C., Forman, H. J., & Kavanagh, T. J. (2009). Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate cysteine ligase. *Molecular aspects of medicine*, 30(1-2): 86–98. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.009
84. Fu, S. C., Liu, J. M., Lee, K. I., Tang, F. C., Fang, K. M., Yang, C. Y., Su, C. C., Chen, H. H., Hsu, R. J., & Chen, Y. W. (2020). Cr (VI) induces ROS-mediated mitochondrial-dependent apoptosis in neuronal cells via the activation of Akt/ERK/AMPK signaling pathway. *Toxicology in Vitro*, 65: 104795. doi: 10.1016/j.tiv.2020.104795
85. Ganguly, U., Kaur, U., Chakrabarti, S. S., Sharma, P., Agrawal, B. K., Saso, L., & Chakrabarti, S. (2021). Oxidative stress, neuroinflammation, and NADPH oxidase: implications in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021: 1–19. doi: 10.1155/2021/7086512
86. García-Ruiz, C., Ribas, V., Baulies, A., & Fernández-Checa, J. C. (2017). Mitochondrial cholesterol and the paradox in cell death. *Pharmacology of Mitochondria*, 240: 189–210. doi: 10.1007/164\_2016\_110
87. Garlitska, N., Fira, L., Lykhatskyi, P., & Boyko, L. (2021). Biochemical mechanisms of oxidative stress in animals exposed to hexavalent chromium compounds in the case of isoniazid–rifampicin hepatitis. *Farmacologia*, 69(2): 253–259. doi:10.31925/farmacologia.2021.2.9

88. Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P., & Parent, M. (2018). Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants*, 7(5): 62. doi: 10.3390/antiox7050062
89. Gavrilescu, M. (2022). Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Current opinion in biotechnology*, 74: 21–31. doi: 10.1016/j.copbio.2021.10.024
90. Ge, H., Li, Z., Jiang, L., Li, Q., Geng, C., Yao, X., Shi, X., Liu, Y., & Cao, J. (2019). Cr(VI) induces crosstalk between apoptosis and autophagy through endoplasmic reticulum stress in A549 cells. *Chemico-Biological Interactions*, 298: 35–42. doi: 10.1016/j.cbi.2018.10.024
91. Ghosh, P., Dey, T., Chattopadhyay, A., & Bandyopadhyay, D. (2021). An insight into the ameliorative effects of melatonin against chromium induced oxidative stress and DNA damage: a review. *Melatonin Research*, 4(3): 377–407. doi: 10.32794/mr112500101
92. Gkini, E., Anagnostopoulos, D., Mavri-Vavayianni, M., & Siafaka-Kapadai, A. (2009). Metabolism of 2-acylglycerol in rabbit and human platelets. Involvement of monoacylglycerol lipase and fatty acid amide hydrolase. *Platelets*, 20(6): 376–385. doi: 10.1080/09537100903121813
93. Gokhale, S. G., & Daggubati, V. S. (2022). Spectrometry of cord blood and maternal blood for Hb-F and Hb-A and novel technology for non-invasive measurement of hemoglobin in mother and baby. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 35(25): 8327–8330. doi: 10.1080/14767058.2021.1973995
94. Gong, L., Wang, C., Ning, G., Wang, W., Chen, G., Wan, Q., & Chen, L. (2021). High concentrations of triglycerides are associated with diabetic kidney disease in new-onset type 2 diabetes in China: Findings from the China Cardiometabolic Disease and Cancer Cohort (4C) Study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 23(11): 2551–2560. doi: 10.1111/dom.14502
95. Górnicka, M., Ciecierska, A., Hamulka, J., Drywień, M. E., Frackiewicz, J., Górnicki, K., & Wawrzyniak, A. (2019).  $\alpha$ -Tocopherol protects the heart, muscles, and testes



- from lipid peroxidation in growing male rats subjected to physical efforts. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019: 13. doi: 10.1155/2019/8431057
96. Gugliandolo, A., Chiricosta, L., Silvestro, S., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2019).  $\alpha$ -Tocopherol modulates non-amyloidogenic pathway and autophagy in an in vitro model of Alzheimer's disease: a transcriptional study. *Brain Sciences*, 9(8): 196–212. doi: 10.3390/brainsci9080196
97. Guo, X., Yang, Q., Zhang, W., Chen, Y., Ren, J., & Gao, A. (2019). Associations of blood levels of trace elements and heavy metals with metabolic syndrome in Chinese male adults with microRNA as mediators involved. *Environmental pollution*, 248: 66–73. doi: 10.1016/j.envpol.2019.02.015
98. Hagele, T. J., Mazerik, J. N., Gregory, A., Kaufman, B., Magalang, U., Kuppusamy, M. L., Marsh, C. B., Kuppusamy, P., & Parinandi, N. L. (2007). Mercury activates vascular endothelial cell phospholipase D through thiols and oxidative stress. *International journal of toxicology*, 26(1): 57–69. doi: 10.1080/10915810601120509
99. Hamza, R. Z., EL-Megharbel, S. M., Altalhi, T., Gobouri, A. A., & Alrogi, A. A. (2020). Hypolipidemic and hepatoprotective synergistic effects of selenium nanoparticles and vitamin E against acrylamide-induced hepatic alterations in male albino mice. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(3): e5458. doi:10.1002/aoc.5458
100. Haney Jr, J. (2015). Consideration of non-linear, non-threshold and threshold approaches for assessing the carcinogenicity of oral exposure to hexavalent chromium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3): 834–852. doi: 10.1016/j.yrtph.2015.10.011
101. Hassan, M., Abd-Elwahab, W., Megahed, R., & Mohammed, A. (2019). An Evaluation of Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, and Genotoxicity Induced by Acute Toxicity of Hexavalent Chromium and Comparison of the Possible Protective Role of Selenium and Vitamin E on These Effects. *Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 33(2): 48–58. doi: 10.21608/ajfm.2019.36574
102. He, W., Xu, Y., Ren, X., Xiang, D., Lei, K., Zhang, C., & Liu, D. (2019). Vitamin E ameliorates lipid metabolism in mice with nonalcoholic fatty liver disease via

- Nrf2/CES1 signaling pathway. *Digestive Diseases and Sciences*, 64(11): 3182–3191. doi: 10.1007/s10620-019-05657-9
103. He, X., & Li, P. (2020). Surface water pollution in the middle Chinese Loess Plateau with special focus on hexavalent chromium (Cr<sup>6+</sup>): occurrence, sources and health risks. *Exposure and Health*, 12(3): 385–401. doi: 10.1007/s12403-020-00344-x
104. Heden, T. D., Johnson, J. M., Ferrara, P. J., Eshima, H., Verkerke, A. R., Wentzler, E. J., Siripoksup, P., Narowski, T. M., Coleman, C. B., Lin, C. T., Ryan, T. E., Paul, Reidy, P. T., Brás, L. E., Karner, C. M., Burant, C. F., Mashek, J. A., Cox, J. E., Mashek, D. G., Kardon, G., Boudina, S., Zeczycki, T. N., Rutter, J., Shaikh, S. R., Vance, J. E., Drummond, M. J., Neuffer, P. D., & Funai, K. (2019). Mitochondrial PE potentiates respiratory enzymes to amplify skeletal muscle aerobic capacity. *Science advances*, 5(9): 1–11. doi: 10.1126/sciadv.aax8352
105. Henneberry, A. L., Wright, M. M., & McMaster, C. R. (2002). The major sites of cellular phospholipid synthesis and molecular determinants of fatty acid and lipid head group specificity. *Molecular biology of the cell*, 13(9): 3148–3161. doi: 10.1091/mbc.01-11-0540
106. Ho, S. Y., Delgado, L., & Storch, J. (2002). Monoacylglycerol metabolism in human intestinal Caco-2 cells: evidence for metabolic compartmentation and hydrolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 277(3): 1816–1823. doi: 10.1074/jbc.M108027200
107. Hong, S., Zhang, Y., Hu, G., & Jia, G. (2022). Exploration of Whole Blood Chromium as Biomarker of Hexavalent Chromium Exposure: Based on Literature Review and Monte Carlo Simulation. *Biological Trace Element Research*, 201: 1–10.
108. Huff, T., Boyd, B., & Jialal, I. (2022). Physiology, cholesterol. In StatPearls [Internet]. *StatPearls Publishing*.
109. Husain, N., & Mahmood, R. (2017). Hexavalent chromium induces reactive oxygen species and impairs the antioxidant power of human erythrocytes and lymphocytes: Decreased metal reducing and free radical quenching ability of the cells. *Toxicology and Industrial Health*, 33(8): 623–635. doi: 10.1177/074823371770389

110. Husain, N., & Mahmood, R. (2018). 3, 4-Dihydroxybenzaldehyde quenches ROS and RNS and protects human blood cells from Cr(VI)-induced cytotoxicity and genotoxicity. *Toxicology in Vitro*, 50: 293–304. doi: 10.1016/j.tiv.2018.04.004
111. Husain, N., & Mahmood, R. (2020). Taurine attenuates Cr(VI)-induced cellular and DNA damage: an in vitro study using human erythrocytes and lymphocytes. *Amino acids*, 52: 35–53. doi: 10.1007/s00726-019-02807-1
112. Ibrahim, W. M., Oda, S. S., & Khafaga, A. F. (2017). Pathological Evaluation of The Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Chromium-Induced Reproductive Toxicity in Male Albino Rats. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 53(2): 24–32. doi: 10.5455/ajvs.251315
113. Iskra, R. Y., & Fedoruk, R. S. (2022). Chromium, its properties, transformation, and impact on humans. *Fiziologichnyi zhurnal*. 68(4): 89–97. doi:10.1016/ s0021-9258(19)52451-6
114. Islam, M. N., Rauf, A., Fahad, F. I., Emran, T. B., Mitra, S., Olatunde, A., Shariati, M. A., Rebezov, M., Rengasamy, K. R., & Mubarak, M. S. (2022). Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(26): 7282–7300. doi: 10.1080/10408398.2021.1913400
115. Iztleuov, M., Iztleuov, Y., Saparbayev, S., Temirbayeva, A., Medeuova, R., Aleuova, Z., Ismailova, I., & Imanbayev, N. (2022). Effect of burdock root oil on oxidative stress induced by isolated and combined use of gamma radiation and hexavalent chromium. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 15(1): 421–432. doi: 10.13005/bpj/2382
116. Iztleuov, M., Kaliev, A., Turganbaeva, A., Yesmukhanova, D., Akhmetova, A., & Iztleuov, Y. (2020). The effect of sodium tetraborate on chromium-induced oxidative damages in rats lung tissue. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 13(1): 281–290. doi:10.13005/bpj/1887
117. Iztleuov, M., Teleuov, M., Iztleuov, Y., Saparbaev, S., Yelubayeva, A., & Yemzharova, G. (2021). Influence of the herbal preparation “Licorice oil” on the state

- of hematopoiesis in rats under ionizing irradiation. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 14(2): 869–879. doi: 10.13005/bpj/2189
118. Jeevana Latha, M., Srikanth, M. K., Gopala Reddy, A., & Reddy, A. (2018). Haematological study in hexavalent chromium toxicity in female wistar rats and its progeny. *The Pharma Innovation*, 7(1): 35–38.
119. Jiang, C., Cheong, L. Z., Zhang, X., Ali, A. H., Jin, Q., Wei, W., & Wang, X. (2022). Dietary sphingomyelin metabolism and roles in gut health and cognitive development. *Advances in Nutrition*, 13(2), 474–491. doi: 10.1093/advances/nmab117
120. Joardar, N., Guevara-Flores, A., Martínez-González, J. D. J., & Babu, S. P. S. (2020). Thiol antioxidant thioredoxin reductase: A prospective biochemical crossroads between anticancer and antiparasitic treatments of the modern era. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165: 249–267. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.096
121. Joseph, J. A., Denisova, N. A., Bielinski, D., Fisher, D. R., & Shukitt-Hale, B. (2000). Oxidative stress protection and vulnerability in aging: putative nutritional implications for intervention. *Mechanisms of ageing and development*, 116(2-3), 141–153. doi: 10.1016/s0047-6374(00)00128-7
122. Kalayarasan, S., Sriram, N., Sureshkumar, A., & Sudhandiran, G. (2008). Chromium (VI)-induced oxidative stress and apoptosis is reduced by garlic and its derivative S-allylcysteine through the activation of Nrf2 in the hepatocytes of Wistar rats. *Journal of Applied Toxicology*, 28(7): 908–919. doi: 10.1002/jat.1355
123. Kandpal, V., & Kumar, D. (2020). Ameliorative role of vitamin E against hexavalent chromium induced hepato–nephrotoxicity in laboratory chicks: a histopathological study. *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(1): 132138.
124. Kandpal, V., Kumar, D., & Bisht, R. (2019). Protective effect of vitamin E on haematological parameters in chronic toxicity of hexavalent chromium in laboratory chicks. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3): 388–392. doi: 10.22270/jddt.v9i3.2889

125. Kates M. (1986). Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. *Amsterdam, Elsevier*, 464 p.
126. Katsuyama, M., Matsuno, K., & Yabe-Nishimura, C. (2012). Physiological Relevance of Antioxid/Redox Genes; Learning from Genetically Modified Animals: Physiological roles of NOX/NADPH oxidase, the superoxide-generating enzyme. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 50(1): 9–22. doi: 10.3164/jcbrn.11-06SR
127. Khalaf, A. A., Hassanen, E. I., Ibrahim, M. A., Tohamy, A. F., Aboseada, M. A., Hassan, H. M., & Zaki, A. R. (2020). Rosmarinic acid attenuates chromium-induced hepatic and renal oxidative damage and DNA damage in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 34(11): e22579. doi: 10.1002/jbt.22579
128. Khanvirdiloo, S., Ziamajidi, N., Moradi, A., Ghasemi, H., Ghafourikhosroshahi, A., Bahmanzadeh, M., Ghadiri, M., & Abbasalipourkabir, R. (2021). Effects of vitamins A and E on TiO<sub>2</sub> nanoparticles-induced spermatogenesis defects in male Wistar rats. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 45: 1191–1200. doi: 10.1007/s40995-021-01114-3(0123456789
129. Kim, H. J., & Nel, A. E. (2005). The role of phase II antioxidant enzymes in protecting memory T cells from spontaneous apoptosis in young and old mice. *The journal of immunology*, 175(5): 2948–2959. doi.org/10.4049/jimmunol.175.5.2948
130. Kim, J. J., Kim, Y. S., & Kumar, V. (2019). Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *Journal of Trace elements in Medicine and Biology*, 54: 226–231. doi: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003
131. Kohoude, M. J., Gbaguidi, F., Agbani, P., Ayedoun, M. A., Cazaux, S., & Bouajila, J. (2017). Chemical composition and biological activities of extracts and essential oil of *Boswellia dalzielii* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 55(1): 33–42. doi: 10.1080/13880209.2016.1226356
132. Kooijman, E. E., & Burger, K. N. (2009). Biophysics and function of phosphatidic acid: a molecular perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(9): 881–888. doi: 10.1016/j.bbalip.2009.04.001

133. Kosicek, M., & Hecimovic, S. (2013). Phospholipids and Alzheimer's disease: alterations, mechanisms and potential biomarkers. *International journal of molecular sciences*, 14(1): 1310–1322. doi: 10.3390/ijms14011310
134. Kotyk B., Iskra R. (2018, June 10–14). Toxic Effect of Different Concentrations of Potassium Bichromate on Biochemical Parameters of Blood of Rats [Abstract]. Central and Eastern European Conference on Health and Environment (CEECH), Krakow, Poland, 17.
135. Kotyk B., Iskra R. (2021, August 2–6). Effects of chromium(VI) and ethylthiosulfanylate on the glutathione reductase activity and reduced glutathione content in rat liver [Abstract]. International Conference of Trace Elements and Minerals (ICTEM), Aachen, Germany, 59.
136. Kotyk B., Liubas N., Iskra R. (2021, September 29–30). Effect of ethylthiosulfanylate on hematological indicators in blood of rats under the toxic effect of Chromium(VI) [Abstract]. The 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum “Agrobioprospectives”, Lviv, Ukraine, 60.
137. Kotyk B.I., Iskra R.Ya., Svarchevska O.Z. (2021, May 26–27). Biological features of ethylthiosulfanylate influence on the activity of antioxidant enzymes in rat kidneys under the action of Cr(VI) [Abstract]. “XV All-Ukrainian Conference of Young Scientists with International Participation”, dedicated to the 30th anniversary of Ukraine's Independence, Kyiv, Ukraine, 14.
138. Kotyk, B. I. (2023). Effect of ethylthiosulfanylate in combination with vitamin E on certain biochemical blood parameters and hematological indicators of rats under the influence of Cr(VI). *The Animal Biology*, 25(1): 31–37. doi: 10.15407/animbiol25.01.031
139. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., & Merlavsky, V. M. (2023). Features of the influence of S-ethyl-4-aminobenzene thiosulfonate on some biochemical parameters of rat blood under the condition of Cr(VI) intoxication. *Studia Biologica*, 17(1): 49–60. doi:10.30970/sbi.1701.701
140. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Slivinska, O. M., Liubas, N. M., Pylypets, A. Z., Lubenets, V. I., & Pryimych, V. I. (2020). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on

- the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 92(5): 78–86. doi: 10.15407/ubj92.05.078
141. Kotyk, B., & Iskra, R. (2021). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of glutathione antioxidant system and oxidative stress markers content in rat kidneys. *Current Applied Science and Technology*, 21(4): 761–773. doi: 10.14456/cast.2021.61
142. Kotyk, B., Iskra, R., & Lubunets, V. (2022). Antioxidant effect of the complex action of vitamin E and ethylthiosulfanylate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2): 1405–1420. doi: 10.33263/BRIAC122.14051420
143. Kotyzova, D., Hodkova, A., Bludovska, M., & Eybl, V. (2015). Effect of chromium (VI) exposure on antioxidant defense status and trace element homeostasis in acute experiment in rat. *Toxicology and industrial health*, 31(11): 1044–1050. doi: 10.1177/07482337113487244
144. Kumbhar, S., Khan, A. Z., Parveen, F., Nizamani, Z. A., Siyal, F. A., El-Hack, M. E. A., Gan, F., Liu, Y., Hamid, M., Nido, S. A., & Huang, K. (2018). Impacts of selenium and vitamin E supplementation on mRNA of heat shock proteins, selenoproteins and antioxidants in broilers exposed to high temperature. *AMB Express*, 8(1): 112–122. doi: 10.1186/s13568-018-0641-0
145. Lacerda, L. M., Garcia, S. C., da Silva, L. B., de Ávila Dornelles, M., Presotto, A. T., Lourenço, E. D., Franceschi, I. D., Fernandes, E., Wannmacher, C. M., Brucker, N., Sauer, E., Gioda, A., Machado, A. B., Oliveira, E., Trombini, T. L., & Feksa, L. R. (2019). Evaluation of hematological, biochemical parameters and thiol enzyme activity in chrome plating workers. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 1892–1901. doi: 10.1007/s11356-018-3755-7
146. Lang, P. A., Schenck, M., Nicolay, J. P., Becker, J. U., Kempe, D. S., Lupescu, A., Koka, S., Eisele, K., Klarl, B.A., Rübber, H., Schmid, K. W., Mann, K., Hildenbrand, S., Hefter, H., Huber, S. M., Wieder, T., Erhardt, A., Häussinger, D., Gulbins, E., & Lang, F. (2007). Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid

- sphingomyelinase and ceramide. *Nature medicine*, 13(2): 164–170. doi: 10.1038/nm1539
147. Laxmi, V., & Kaushik, G. (2020). Toxicity of hexavalent chromium in environment, health threats, and its bioremediation and detoxification from tannery wastewater for environmental safety. *Bioremediation of industrial waste for environmental safety*, 1: 223–243. doi: 10.1007/978-981-13-1891-7\_11
148. Li, H., Shi, J., Gao, H., Yang, X., Fu, Y., Peng, Y., Xia, Y., & Zhou, D. (2022). Hexavalent chromium causes apoptosis and autophagy by inducing mitochondrial dysfunction and oxidative stress in broiler cardiomyocytes. *Biological Trace Element Research*, 200(6), 28662875. doi: 10.1007/s12011-021-02877-x
149. Li, J., Zheng, X., Ma, X., Xu, X., Du, Y., Lv, Q., Li, X., Wu, Y., Sun, H., Yu, L., & Zhang, Z. (2019). Melatonin protects against chromium (VI)-induced cardiac injury via activating the AMPK/Nrf2 pathway. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 197: 110698. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.110698
150. Li, X. H., Li, C. Y., Lu, J. M., Tian, R. B., & Wei, J. (2012). Allicin ameliorates cognitive deficits ageing-induced learning and memory deficits through enhancing of Nrf2 antioxidant signaling pathways. *Neuroscience letters*, 514(1): 46–50. doi: 10.1016/j.neulet.2012.02.054
151. Li, X. H., Li, C. Y., Xiang, Z. G., Hu, J. J., Lu, J. M., Tian, R. B., & Jia, W. (2012). Allicin ameliorates cardiac hypertrophy and fibrosis through enhancing of Nrf2 antioxidant signaling pathways. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 26(6): 457–465. doi: 10.1007/s10557-012-6415-z
152. Li, X., He, S., Zhou, J., Yu, X., Li, L., Liu, Y., & Li, W. (2021). Cr(VI) induces abnormalities in glucose and lipid metabolism through ROS/Nrf2 signaling. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 219: 112320. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112320
153. Li, Y., Zhao, Y., Deng, H., Chen, A., Chai, L. (2018). Endocrine disruption, oxidative stress and lipometabolic disturbance of *Bufo gargarizans* embryos exposed to hexavalent chromium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 166: 242–250. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.100



154. Liang, H., Yu, Z., Zeng, J., Liu, J., & Hu, H. (2018). GW29-e1089 Cadmium exposure-induced abnormal lipid metabolism in human dermal microvascular endothelial cells. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(16): 226–227.
155. Liang, M., Wang, Z., Li, H., Cai, L., Pan, J., He, H., Wu, Q., Tang, Y., Ma, J., & Yang, L. (2018). l-Arginine induces antioxidant response to prevent oxidative stress via stimulation of glutathione synthesis and activation of Nrf2 pathway. *Food and chemical toxicology*, 115: 315–328. doi: 10.1016/j.fct.2018.03.029
156. Lima Rocha, J. É., Mendes Furtado, M., Mello Neto, R. S., da Silva Mendes, A. V., Brito, A. K. D. S., de Almeida, S., & Martins, M. D. C. D. C. (2022). Effects of fish oil supplementation on oxidative stress biomarkers and liver damage in hypercholesterolemic rats. *Nutrients*, 14(3): 426–441. doi: 10.3390/nu14030426
157. Liu, F., Chen, X., Liu, Y., Niu, Z., Tang, H., Mao, S., Li, N., Chen, G., & Xiang, H. (2021). Serum cardiovascular-related metabolites disturbance exposed to different heavy metal exposure scenarios. *Journal of Hazardous Materials*, 415: 125590. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125590
158. Liu, K., Husler, J., Ye, J., Leonard, S. S., Cutler, D., Chen, F., ... & Shi, X. (2001). On the mechanism of Cr(VI)-induced carcinogenesis: dose dependence of uptake and cellular responses. *Molecular Mechanisms of Metal Toxicity and Carcinogenesis*, 222(12): 221–229.
159. Liu, P., Zhu, W., Chen, C., Yan, B., Zhu, L., Chen, X., & Peng, C. (2020). The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases. *Life sciences*, 247: 117443. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117443
160. Liu, Z., & Barrett, E. J. (2002). Human protein metabolism: its measurement and regulation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 283(6): 1105–1112. doi: 10.1152/ajpendo.00337.2002
161. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets V. I. (2022) Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 94(6): 18–29. doi:10.15407/ubj94.06.018
162. Liubas, N., Iskra, R., Stadnytska, N., Monka, N., Havryliak, V., & Lubenets, V. (2022). Antioxidant activity of thiosulfonate compounds in experiments *in vitro* and

- in vivo*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(3): 3106–3116. doi:10.33263/briac123.31063116
163. Lloret, A., Esteve, D., Monllor, P., Cervera-Ferri, A., & Lloret, A. (2019). The effectiveness of vitamin E treatment in Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*, 20(4): 879–896. doi: 10.3390/ijms20040879
164. Long, C., Hu, G., Zheng, P., Chen, T., Su, Z., Zhang, Y., Ding, C., Peng, F., Yu, S., Wang, T., & Jia, G. (2021). Analysis of serum metabolome of workers occupationally exposed to hexavalent chromium: a preliminary study. *Toxicology Letters*, 349, 92–100. doi: 10.1016/j.toxlet.2021.06.007
165. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–275. doi:10.1016/ s0021-9258(19)52451-6
166. Lu, Z., Ma, G., & Chen, L. (2020). De-Ritis ratio is associated with mortality after cardiac arrest. *Disease Markers*, 2020: 8826318. doi: 10.1155/2020/8826318
167. Lubenets, V. I., Havryliak, V. V., Pylypets, A. Z., & Nakonechna, A. V. (2018). Changes in the spectrum of proteins and phospholipids in tissues of rats exposed to thiosulfonates. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(4): 495–500. doi: 10.15421/021874
168. Lubenets, V., Karpenko, O., Ponomarenko, M., Zahoriy, G., Krychkovska, A., & Novikov, V. (2013). Development of new antimicrobial compositions of thiosulfonate structure. *Chemistry and Chemical Technology*, 7(2): 119–124.
169. Lubenets, V., Stadnytska, N., Baranovych, D., Vasylyuk, S., Karpenko, O., Havryliak, V., & Novikov, V. (2019). Thiosulfonates: the prospective substances against fungal infections. *Fungal Infection*, 1: 24. doi: 10.5772/intechopen.84436
170. Łuczaj, W., Gindzienska-Sieskiewicz, E., Jarocka-Karpowicz, I., Andrisic, L., Sierakowski, S., Zarkovic, N., Waeg, G., & Skrzydlewska, E. (2016). The onset of lipid peroxidation in rheumatoid arthritis: consequences and monitoring. *Free radical research*, 50(3): 304–313. doi: 10.3109/10715762.2015.1112901

171. Luo, J., Yang, H., & Song, B. L. (2020). Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21(4): 225–245. doi: 10.1038/s41580-019-0190-7
172. Lv, Y., Jiang, H., Li, S., Han, B., Liu, Y., Yang, D., Li, J., Yang, Q., Wu, P., & Zhang, Z. (2020). Sulforaphane prevents chromium-induced lung injury in rats via activation of the Akt/GSK-3 $\beta$ /Fyn pathway. *Environmental Pollution*, 259: 113812. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113812
173. Ma, B., Zhang, L., Li, J., Xing, T., Jiang, Y., & Gao, F. (2021). Heat stress alters muscle protein and amino acid metabolism and accelerates liver gluconeogenesis for energy supply in broilers. *Poultry science*, 100(1): 215–223. doi: 10.1016/j.psj.2020.09.090
174. Ma, Y., Li, S., Tang, S., Ye, S., Liang, N., Liang, Y., & Xiao, F. (2022). Clusterin protects against Cr(VI)-induced oxidative stress-associated hepatotoxicity by mediating the Akt-Keap1-Nrf2 signaling pathway. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(34): 52289–52301. doi: 10.1007/s11356-022-19118-w
175. Ma, Y., Li, S., Ye, S., Tang, S., Hu, D., Wei, L., & Xiao, F. (2021). Hexavalent chromium inhibits the formation of neutrophil extracellular traps and promotes the apoptosis of neutrophils via AMPK signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223: 112614. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112614
176. Machado, A. B., Caprara, J. F., de Franceschi, I. D., Linden, R., Berlese, D. B., & Feksa, L. R. (2019). Effects of chronic exposure to hexavalent chromium in water on oxidative stress parameters in Wistar rats. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 41: 43771. doi: 10.4025/actascibiolsci.v41i1.43771
177. Mandal, A. K. (2022). Chromium Induced Developments of Diseases and their Inhibitions by Cargos. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 12(4): 108–119. doi: 10.9734/ajbgmb/2022/v12i4274
178. Manoj Kumar, V., Henley, A. K., Nelson, C. J., Indumati, O., Prabhakara Rao, Y., Rajanna, S., & Rajanna, B. (2017). Protective effect of *Allium sativum* (garlic) aqueous extract against lead-induced oxidative stress in the rat brain, liver, and

- kidney. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2): 1544–1552. doi: 10.1007/s11356-016-7923-3
179. Mariutti, L. R. B. (2022). Lipid Peroxidation (TBARS) in Biological Samples. *In Basic Protocols in Foods and Nutrition* (pp. 107-113). New York, NY: Springer US.
180. Marouani, N., Tebourbi, O., Mahjoub, S., Yacoubi, M. T., Sakly, M., Benkhalifa, M., & Rhouma, K. B. (2012). Effects of hexavalent chromium on reproductive functions of male adult rats. *Reproductive biology*, 12(2): 119–133. doi: 10.1016/S1642-431X(12)60081-3
181. Mary Momo, C. M., Ferdinand, N., Omer Bebe, N. K., Alexane Marquise, M. N., Augustave, K., Bertin Narcisse, V., Herve, T., & Joseph, T. (2019). Oxidative effects of potassium dichromate on biochemical, hematological characteristics, and hormonal levels in rabbit doe (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary sciences*, 6(1): 30–43. doi: 10.3390/vetsci6010030
182. Mathew, M., Tay, E., & Cusi, K. (2010). Elevated plasma free fatty acids increase cardiovascular risk by inducing plasma biomarkers of endothelial activation, myeloperoxidase and PAI-1 in healthy subjects. *Cardiovascular diabetology*, 9(1): 1–9. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011613-135945
183. Mehany, H. A., Abo-youssef, A. M., Ahmed, L. A., Arafa, E. S. A., & Abd El-Latif, H. A. (2013). Protective effect of vitamin E and atorvastatin against potassium dichromate-induced nephrotoxicity in rats. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(2): 96–102. doi: 10.1016/j.bjbas.2013.02.002
184. Mehta, S. K., & Gowder, S. J. T. (2015). Members of antioxidant machinery and their functions. *Basic principles and clinical significance of oxidative stress*, 11: 59–85. doi:10.5772/61884
185. Meikle, P. J., & Summers, S. A. (2017). Sphingolipids and phospholipids in insulin resistance and related metabolic disorders. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(2): 79–91. doi: 10.1038/nrendo.2016.169
186. Michalak, M. (2022). Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process. *International journal of molecular sciences*, 23(2): 585. doi: 10.3390/ijms23020585

187. Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1): 68–78. doi: 10.1016/j.advms.2017.05.005
188. Mishra, A. (2019). Artificial neural network (ANN) and regression model for predicting the albumin to globulin (A/G) ratio in a serum protein electrophoresis test. *African Journal of Biological Sciences*, 1(3): 40–49. doi: 10.33472/AFJBS.1.3.2019.40-49
189. Mishra, P., Paital, B., Jena, S., Swain, S. S., Kumar, S., Yadav, M. K., Chainy, B. N., & Samanta, L. (2019). Possible activation of NRF2 by Vitamin E/Curcumin against altered thyroid hormone induced oxidative stress via NFκB/AKT/mTOR/KEAP1 signalling in rat heart. *Scientific reports*, 9(1): 1–16. doi: 10.1038/s41598-019-43320-5
190. Mohamed, A. A. R., El-Houseiny, W., Abd Elhakeem, E. M., Ebraheim, L. L., Ahmed, A. I., & Abd El-Hakim, Y. M. (2020). Effect of hexavalent chromium exposure on the liver and kidney tissues related to the expression of CYP450 and GST genes of *Oreochromis niloticus* fish: Role of curcumin supplemented diet. *Ecotoxicology and environmental safety*, 188: 109890. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109890
191. Molina-Jijón, E., Zarco-Márquez, G., Medina-Campos, O. N., Zatarain-Barrón, Z. L., Hernández-Pando, R., Pinzón, E., Zavaleta, R. M., Tapia, E., & Pedraza-Chaverri, J. (2012). Deferoxamine pretreatment prevents Cr(VI)-induced nephrotoxicity and oxidant stress: role of Cr(VI) chelation. *Toxicology*, 291(1–3): 93–101. doi: 10.1016/j.tox.2011.11.003
192. Muñoz, P., & Munne-Bosch, S. (2019). Vitamin E in plants: biosynthesis, transport, and function. *Trends in plant science*, 24(11): 1040–1051. doi: 10.1016/j.tplants.2019.08.006
193. Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019: 9613090. doi: 10.1155/2019/9613090.

194. Narayanankutty, A., Job, J. T., & Narayanankutty, V. (2019). Glutathione, an antioxidant tripeptide: dual roles in carcinogenesis and chemoprevention. *Current Protein and Peptide Science*, 20(9): 907–917. doi: 10.2174/1389203720666190206130003
195. Navya, K., Phani, K. G., Chandrasekhar, Y., Anilakumar, K. (2018). Evaluation of potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ )-induced liver oxidative stress and ameliorative effect of Picrorhiza kurroa extract in Wistar albino rats. *Biological trace element research*, 184: 154–164. doi: 10.1007/s12011-017-1172-2
196. Ndeh, F. J., Ojong, E. W., Akpan, U. O., & Ekeagba, I. I. (2022). Serum Amino Transaminases Activities and De Ritis Ratio amongst Apparently Healthy Secretors and Non-Secretors of ABH Substances Dwelling in Uyo Urban, Akwa Ibom State, Nigeria. *Asian Journal of Research and Reports in Hepatology*, 4(1): 1–20.
197. Negara, I. K. S., Surya, I. G. P., Sanjaya, H., Anantasika, A. A. N., & Mahardika, I. M. (2016). Lower serum catalase level is associated with preterm labor among pregnant women at Sanglah Hospital Denpasar, Bali-Indonesia. *Bali Medical Journal*, 5(3): 404–407. doi: 10.15562/bmj.v5i3.292
198. Nyakundi, B. B., Erdei, J., Tóth, A., Balogh, E., Nagy, A., Nagy, B., Novák, L., Bognár, L., Paragh, G., Kappelmayer, J., & Jeney, V. (2020). Formation and detection of highly oxidized hemoglobin forms in biological fluids during hemolytic conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020: 8929020. doi: 10.1155/2020/8929020
199. Obaseki, A. I., Alabi, G. O., & Hlangothi, B. (2022). Therapeutic Role of Leaf Pulp of *Carpobrotus edulis* on Chromium VI Induced Toxicity in Wistar Rats. *Letters in Applied NanoBioScience*, 11(3): 3887–3896. doi: 10.33263/LIANBS113.38873896
200. Offermanns, S. (2014). Free fatty acid (FFA) and hydroxy carboxylic acid (HCA) receptors. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 54: 407–434. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011613-135945
201. Ogata, F., Kimura, H., Saenjum, C., Nakamura, T., & Kawasaki, N. (2020). Chromium(VI) Adsorption from the Aqueous Phase by Activated Carbon. *BPB Reports*, 3(5): 170–173. doi: 10.1248/bpbreports.3.5\_170

202. Okamoto, K., Maruyama, T., Kaji, Y., Harada, M., Mawatari, S., Fujino, T., & Uyesaka, N. (2004). Verapamil prevents impairment in filterability of human erythrocytes exposed to oxidative stress. *The Japanese journal of physiology*, 54(1): 39–46. doi: 10.2170/jjphysiol.54.39
203. Ola-Davies, O. E., Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., Akande, I., & Ashafa, A. (2019). Ameliorative effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) against potassium dichromate-induced hypertension *in vivo*: involvement of Kim-1/p38 MAPK/Nrf2 signaling. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(4): 21. doi: 10.1515/jbcpp-2018-0172.
204. Onul, N., Ertik, O., Mermer, N., & Yanardag, R. (2018). Synthesis and biological evaluation of S-substituted perhalo-2-nitrobuta-1, 3-dienes as novel xanthine oxidase, tyrosinase, elastase, and neuraminidase inhibitors. *Journal of Chemistry*, 2018: 1–11. doi: 10.1155/2018/4386031
205. Orabi, S. H., & Shawky, S. M. (2020). Ameliorative effects of grape seed oil on chromium-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Slov Vet Res*, 57(3): 123–131. doi: 10.26873/SVR-967-2020
206. Osawa, T. (2018). Development and application of oxidative stress biomarkers. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 82(4): 564–572. doi: 10.1080/09168451.2017.1398068
207. Ozkan, A., Fiskin, K., & Ayhan, A. (2007). Effect of vitamin E and selenium on antioxidant enzymes in brain, kidney and liver of cigarette smoke-exposed mice. *Biologia*, 62(3): 360–364. doi: 10.2478/s11756-007-0060-1
208. Pangrazzi, L., Balasco, L., & Bozzi, Y. (2020). Natural antioxidants: a novel therapeutic approach to autism spectrum disorders?. *Antioxidants*, 9(12), 1186. doi: 10.3390/antiox9121186
209. Parsanathan, R., & Jain, S. K. (2019). Glutathione deficiency alters the vitamin D-metabolizing enzymes CYP27B1 and CYP24A1 in human renal proximal tubule epithelial cells and kidney of HFD-fed mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 131: 376–381. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.017

210. Parveen, K., Khan, M. R., & Siddiqui, W. A. (2009). Pycnogenol® prevents potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ )-induced oxidative damage and nephrotoxicity in rats. *Chemico-biological interactions*, 181(3): 343–350. doi: 10.1016/j.cbi.2009.08.001
211. Patlolla, A. K., Barnes, C., Hackett, D., & Tchounwou, P. B. (2009). Potassium dichromate induced cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in human liver carcinoma (HepG2) cells. *International journal of environmental research and public health*, 6(2): 643–653. doi: 10.3390/ijerph6020643
212. Patlolla, A. K., Barnes, C., Yedjou, C., Velma, V. R., & Tchounwou, P. B. (2009). Oxidative stress, DNA damage, and antioxidant enzyme activity induced by hexavalent chromium in Sprague-Dawley rats. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 24(1): 66–73. doi: 10.1002/tox.20395
213. Pavesi, T., & Moreira, J. C. (2020). Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans. *Journal of applied toxicology*, 40(9): 1183–1197. doi: 10.1002/jat.3965
214. Picaud, T., & Desbois, A. (2006). Interaction of glutathione reductase with heavy metal: the binding of Hg (II) or Cd (II) to the reduced enzyme affects both the redox dithiol pair and the flavin. *Biochemistry*, 45(51): 15829–15837. doi: 10.1021/bi061304m
215. Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209: 112891. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112891
216. Poursharifi, P., Madiraju, S. R. M., & Prentki, M. (2017). Monoacylglycerol signalling and ABHD6 in health and disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19: 76–89. doi: 10.1111/dom.13008
217. Pratheeshkumar, P., Son, Y. O., Divya, S. P., Roy, R. V., Hitron, J. A., Wang, L., Kim, D., Dai, J., Asha, P., Zhang, Z., Wang, Y., & Shi, X. (2014). Luteolin inhibits Cr (VI)-induced malignant cell transformation of human lung epithelial cells by



- targeting ROS mediated multiple cell signaling pathways. *Toxicology and applied pharmacology*, 281(2): 230–241. doi: 10.1016/j.taap.2014.10.008
218. Pylypets, A. Z., Iskra, R. Ya., Havryliak, V. V., Nakonechna, A. V., Novikov, V. P., & Lubenets V. I. (2017). Effects of thiosulfonates on the lipid composition of rat tissues. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 89(6): 56–62. doi: 10.1039/c8tx00231b
219. Quievryn, G., Peterson, E., Messer, J., & Zhitkovich, A. (2003). Genotoxicity and mutagenicity of chromium (VI)/ascorbate-generated DNA adducts in human and bacterial cells. *Biochemistry*, 42(4): 1062–1070. doi: 10.1021/bi0271547
220. Ranwa, S., Palod, J., Sharma, R. K., & Kumar, S. (2022). Effect of Supplementation of Thyme and Turmeric Essential Oils on Hemato-biochemical Parameters of Japanese Quails. *Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 18(5): 14–18. doi: 10.48165/ijvsbt.18.5.03
221. Ray, R. R. (2016). Adverse hematological effects of hexavalent chromium: an overview. *Interdisciplinary toxicology*, 9(2): 55–65. doi: 10.1515/intox-2016-0007
222. Rehman, A. U., Nazir, S., Irshad, R., Tahir, K., ur Rehman, K., Islam, R. U., & Wahab, Z. (2021). Toxicity of heavy metals in plants and animals and their uptake by magnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 321: 114455. doi: 10.1016/j.molliq.2020.114455
223. Rennie, M. J., & Tipton, K. D. (2000). Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annual review of nutrition*, 20(1): 457–483. doi: 10.1146/annurev.nutr.20.1.457
224. Renu, K., Chakraborty, R., Myakala, H., Koti, R., Famurewa, A. C., Madhyastha, H., Vellingiri, B., George, A., & Gopalakrishnan, A. V. (2021). Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium)-induced hepatotoxicity—A review. *Chemosphere*, 271: 129735. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129735
225. Reyes, J. L., Molina-Jijón, E., Rodríguez-Muñoz, R., Bautista-García, P., Debray-García, Y., & Namorado, M. D. C. (2013). Tight junction proteins and oxidative stress in heavy metals-induced nephrotoxicity. *BioMed research international*, 2013: 730789. doi: 10.1155/2013/730789.

226. Rhee, S. J., Jeong, Y. C., & Choi, J. H. (2005). Effects of vitamin E on phospholipase A2 activity and oxidative damage to the liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Annals of nutrition and metabolism*, 49(6): 392–396. doi: 10.1159/000088930
227. Rizvi, S. I., & Zaid, M. A. (2001). Intracellular reduced glutathione content in normal and type 2 diabetic erythrocytes: Effect of insulin and (-)epicatechin. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 52(3): 483–488.
228. Rocha, S., Gomes, D., Lima, M., Bronze-da-Rocha, E., & Santos-Silva, A. (2015). Peroxiredoxin 2, glutathione peroxidase, and catalase in the cytosol and membrane of erythrocytes under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress. *Free Radical Research*, 49(8): 990–1003. doi: 10.3109/10715762.2015.1028402
229. Saber, T. M., Farag, M. R., & Cooper, R. G. (2015). Ameliorative effect of extra virgin olive oil on hexavalent chromium-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rats. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 166(1-2): 11–9.
230. Saha, R., Nandi, R., & Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*, 64(10): 1782–1806. doi: 10.1080/00958972.2011.583646
231. Sahu, B. D., Koneru, M., Bijargi, S. R., Kota, A., & Sistla, R. (2014). Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in rats: Involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chemico-biological interactions*, 223: 69–79. doi: 10.1016/j.cbi.2014.09.009
232. Saidi, M., Aouacheri, O., Saka, S., Tebboub, I., & Ailane, L. (2019). Nephron-protective effects of curcuma on oxidative damage and oxidative stress in rat under sub-chronic poisoning of chromium. *Int. J. Biosci*, 15(1): 241–250. doi: 10.12692/ijb/15.1.241-250
233. Saini, V. (2010). Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*, 1(3): 68–75. doi: 10.4239/wjd.v1.i3.68
234. Saito, Y. (2021). Diverse cytoprotective actions of vitamin E isoforms-role as peroxy radical scavengers and complementary functions with selenoproteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 175: 121–129. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.234

235. Samra, Y. A., Hamed, M. F., & El-Sheakh, A. R. (2020). Hepatoprotective effect of allicin against acetaminophen-induced liver injury: Role of inflammasome pathway, apoptosis, and liver regeneration. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 34(5): e22470. doi: 10.1002/jbt.22470
236. Satyaparameshwar, K., Reddy, T. R., & Kumar, N. V. (2006). Effect of chromium on protein metabolism of fresh water mussel, *Lamellidens marginalis*. *Journal of Environmental Biology*, 37(2): 401–403.
237. Schuster, G. S., & Caughman, G. B. (2004). Alterations of cell lipids by metal salts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 70(2): 347–353. doi: 10.1002/jbm.a.30091
238. Schütt, F., Aretz, S., Auffarth, G. U., & Kopitz, J. (2012). Moderately reduced ATP levels promote oxidative stress and debilitate autophagic and phagocytic capacities in human RPE cells. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(9): 5354–5361. doi: 10.1167/iovs.12-9845
239. Selle, P., & Liu, S. Y. (2019). The relevance of starch and protein digestive dynamics in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(3): 531–545. doi: 10.3382/japr/pfy026
240. Setiyorini, Y., Anggraeni, A., & Pintowantoro, S. (2022). In-Vivo study of nano chitosan as therapeutic agent for toxic metal implant. *Results in Engineering*, 13: 00352. doi: 10.1016/j.rineng.2022.100352
241. Seven, A., Güzel, S., Seymen, O., Civelek, S., Bolayır, M., Uncu, M., & Burçak, G. (2004). Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma. *Yonsei medical journal*, 45(4): 703–710. doi: 10.3349/ymj.2004.45.4.703
242. Seydi, E., Mahzari, F., Zarei, M. H., Ramazani, M., & Pourahmad, J. (2020). Hexavalent chromium induced oxidative stress and toxicity on isolated human lymphocytes. *International Pharmacy Acta*, 3(1): e1. doi: 10.22037/ipa.v3i1.28616

243. Shah, S., & Damare, S. (2019). Proteomic response of marine-derived *Staphylococcus cohnii* NIOSBK35 to varying Cr(VI) concentrations. *Metallomics*, 11(9): 1465–1471. doi: 10.1039/c9mt00089e
244. Shati, A. A. (2014). Ameliorative effect of vitamin E on potassium dichromate-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of King Saud University-Science*, 26(3): 181–189. doi: 10.1016/j.jksus.2013.12.001
245. Shaw P, Mondal P, Bandyopadhyay A, Chattopadhyay A. (2019). Environmentally relevant concentration of chromium activates Nrf2 and alters transcription of related XME genes in liver of zebrafish. *Chemosphere*. 214: 35–46. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.104
246. Shi, Y. C., Zhao, Y. R., Zhang, A. Z., Zhao, L., Yu, Z., & Li, M. Y. (2022). Hexavalent chromium-induced toxic effects on the hematology, redox state, and apoptosis in *Cyprinus carpio*. *Regional Studies in Marine Science*, 56: 102676. doi: 10.1016/j.rsma.2022.102676
247. Shil, K., & Pal, S. (2018). Metabolic adaptability in hexavalent chromium-treated renal tissue: an in vivo study. *Clinical Kidney Journal*, 11(2): 222–229. doi: 10.1093/ckj/sfx069
248. Shimano, H., & Sato, R. (2017). SREBP-regulated lipid metabolism: convergent physiology—divergent pathophysiology. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(12): 710–730. doi:10.1038/nrendo.2017.91
249. Shimizu, T. (2009). Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 49: 123–150. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.011008.145616
250. Shun, C. H., Yuan, T. H., Hung, S. H., Yeh, Y. P., Chen, Y. H., & Chan, C. C. (2021). Assessment of the hyperlipidemia risk for residents exposed to potential emitted metals in the vicinity of a petrochemical complex. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(22): 27966–27975. doi: 10.1007/s11356-021-12642-1
251. Singh, V., Singh, J., & Mishra, V. (2021). Development of a cost-effective, recyclable and viable metal ion doped adsorbent for simultaneous adsorption and reduction of

- toxic Cr (VI) ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2): 105124. doi: 10.1016/j.jece.2021.105124
252. Singh, V., Singh, N., Verma, M., Kamal, R., Tiwari, R., Sanjay Chivate, M., Nand, S. R., Kumar, A., Singh, A., Singh, M. P., Vamanu, E., & Mishra, V. (2022). Hexavalent-Chromium-Induced Oxidative Stress and the Protective Role of Antioxidants against Cellular Toxicity. *Antioxidants*, 11(12): 2375. doi: 10.3390/antiox11122375
253. Sirait, B. M. M., & Djatisoesanto, W. (2021). Nephroprotector Effect Of Curcumin (Curcuma Longa) And Vitamin E (A-Tocopherol) In Wistar Strain Rats After Cisplatin Treatment. *Indonesian Journal of Urology*, 28(1): 98–108. doi: 10.32421/juri.v28i1.704
254. Slejko, F. F., Petrini, R., Lutman, A., Forte, C., & Ghezzi, L. (2019). Chromium isotopes tracking the resurgence of hexavalent chromium contamination in a past-contaminated area in the Friuli Venezia Giulia Region, northern Italy. *Isotopes in environmental and health studies*, 55(1): 56–69. doi: 10.1080/10256016.2018.1560278
255. Smith, M., Hunter, R., Stellenboom, N., Kusza, D. A., Parker, M. I., Hammouda, A. N., Jackson, G., & Kaschula, C. H. (2016). The cytotoxicity of garlic-related disulphides and thiosulfonates in WHCO1 oesophageal cancer cells is dependent on S-thiolation and not production of ROS. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1860(7): 1439–1449. doi: 10.1016/j.bbagen.2016.03.032
256. Soudani, N., Sefi, M., Amara, I. B., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2010). Protective effects of selenium (Se) on chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(4): 671–678. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.10.002
257. Su, X. (2022). Lipid Peroxidation: Types and its Determination. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 11(6): 1–2.
258. Suljević, D., Sulejmanović, J., Foćak, M., Halilović, E., Pupalović, D., Hasić, A., & Alijagic, A. (2021). Assessing hexavalent chromium tissue-specific accumulation patterns and induced physiological responses to probe chromium toxicity in Coturnix

- japonica quail. *Chemosphere*, 266: 129005. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.129005
259. Sumida, Y., Yoneda, M., Seko, Y., Takahashi, H., Hara, N., Fujii, H., Itoh, Y., Yoneda, M., Nakajima, A., Okanou, T., & JSG-NAFLD. (2021). Role of vitamin E in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology and Medicine*, 177: 391–403. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.10.017
260. Suminda, G. G. D., Min, Y., Kim, M., Heo, Y., Do, K., & Son, Y. O. (2022). Hexavalent Chromium Induces Cartilage Degeneration and Osteoarthritis Pathogenesis. *Exposure and Health*, 1–15. doi: 10.1007/s12403-022-00502-3
261. Sun, D., Sun, C., Qiu, G., Yao, L., Yu, J., Al Sberi, H., ... & Abdel Moneim, A. E. (2021). Allicin mitigates hepatic injury following cyclophosphamide administration via activation of Nrf2/ARE pathways and through inhibition of inflammatory and apoptotic machinery. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(29): 39625–39636. doi: 10.1007/s11356-021-13392-w
262. Sun, Y., Deng, Z., Liu, R., Zhang, H., Zhu, H., Jiang, L., & Tsao, R. (2020). A comprehensive profiling of free, conjugated and bound phenolics and lipophilic antioxidants in red and green lentil processing by-products. *Food chemistry*, 325: 126925. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126925
263. Suwalsky, M., Castro, R., Villena, F., & Sotomayor, C. P. (2008). Cr(III) exerts stronger structural effects than Cr(VI) on the human erythrocyte membrane and molecular models. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102(4): 842–849. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.11.020
264. Tada, H., Nohara, A., & Kawashiri, M. A. (2018). Serum triglycerides and atherosclerotic cardiovascular disease: insights from clinical and genetic studies. *Nutrients*, 10(11): 1789. doi: 10.3390/nu10111789
265. Tang, S., Ye, S., Ma, Y., Liang, Y., Liang, N., & Xiao, F. (2020). Clusterin alleviates Cr(VI)-induced mitochondrial apoptosis in L02 hepatocytes via inhibition of Ca<sup>2+</sup>-ROS-Drp1-mitochondrial fission axis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205: 111326. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111326

266. Temiz, M. A., Temur, A., & Oguz, E. K. (2018). Antioxidant and hepatoprotective effects of vitamin E and melatonin against copper-induced toxicity in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(6): 1025–1031. doi: 10.4314/tjpr.v17i6.7
267. Tikare, S. N., Saeed, Y., Amrita, D. G., Salim, A. D., & Kusal, K. D. (2012). Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematology and erythrocyte antioxidant defense system of albino rats exposed to heavy metals (nickel II & chromium VI). *J. Physiol. Pharmacol*, 56(2): 137–146.
268. Toboła-Wróbel, K., Pietryga, M., Dydowicz, P., Napierała, M., Brązert, J., & Florek, E. (2020). Association of oxidative stress on pregnancy. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020: 12. doi: 10.1155/2020/6398520
269. Vanani, A. R., Kalantari, H., Mahdavinia, M., Rashno, M., Khorsandi, L., & Khodayar, M. J. (2021). Dimethyl fumarate reduces oxidative stress, inflammation and fat deposition by modulation of Nrf2, SREBP-1c and NF-κB signaling in HFD fed mice. *Life Sciences*, 283: 119852. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119852
270. Velma, V., & Tchounwou, P. B. (2011). Hexavalent chromium-induced multiple biomarker responses in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. *Environmental toxicology*, 26(6): 649–656. doi: 10.1002/tox.20602
271. Verdier, V., Soulage, C. O., & Koppe, L. (2022). New clinical evidence for urea toxicity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 37(1): 14. doi: 10.1093/ndt/gfab269.
272. Vezza, T., Algieri, F., Garrido-Mesa, J., Utrilla, M. P., Rodríguez-Cabezas, M. E., Banos, A., Guillamón, E., García, F., Rodríguez-Nogales, A., & Gálvez, J. (2019). The Immunomodulatory Properties of Propyl-Propane Thiosulfonate Contribute to its Intestinal Anti-Inflammatory Effect in Experimental Colitis. *Molecular nutrition & food research*, 63(5): 1800653. doi: 10.1002/mnfr.201800653
273. Volpe, S. L. (2020). Medium-Chain Triglycerides and Health. *ACSM's Health & Fitness Journal*, 24(1): 35–36. doi: 10.1249/FIT.0000000000000537
274. Wakeel, A., Xu, M., & Gan, Y. (2020). Chromium-induced reactive oxygen species accumulation by altering the enzymatic antioxidant system and associated cytotoxic, genotoxic, ultrastructural, and photosynthetic changes in plants. *International journal of molecular sciences*, 21(3): 728. doi: 10.3390/ijms21030728

275. Wakeman, T. P., Yang, A., Dalal, N. S., Boohaker, R. J., Zeng, Q., Ding, Q., & Xu, B. (2017). DNA mismatch repair protein Mlh1 is required for tetravalent chromium intermediate-induced DNA damage. *Oncotarget*, 8(48): 83975–83985. doi: 10.18632/oncotarget.20150
276. Walag, A. M. P., Ahmed, O., Jeevanandam, J., Akram, M., Ephraim-Emmanuel, B. C., Egbuna, C., Semwal, P., Iqbal, M., Hassan, S., & Uba, J. O. (2020). Health benefits of organosulfur compounds. *Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations*, 445–472. doi: 10.1007/978-3-030-42319-3\_21
277. Wang, X., Devaiah, S. P., Zhang, W., & Welti, R. (2006). Signaling functions of phosphatidic acid. *Progress in lipid research*, 45(3): 250–278. doi: 10.1016/j.plipres.2006.01.005
278. Wang, X., Son, Y. O., Chang, Q., Sun, L., Hitron, J. A., Budhraja, A., Zhang, Z., Ke, Z., Chen, F., Luo, J., & Shi, X. (2011). NADPH oxidase activation is required in reactive oxygen species generation and cell transformation induced by hexavalent chromium. *Toxicological Sciences*, 123(2): 399–410. doi: 10.1093/toxsci/kfr180
279. Wang, Y., Hao, J., Zhang, S., Li, L., Wang, R., Zhu, Y., Liu, Y., & Liu, J. (2020). Inflammatory injury and mitophagy induced by Cr(VI) in chicken liver. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18): 22980–22988. doi: 10.1007/s11356-020-08544-3
280. Wang, Z., & Yang, C. (2019). Metal carcinogen exposure induces cancer stem cell-like property through epigenetic reprogramming: A novel mechanism of metal carcinogenesis. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 57, pp. 95–104). *Academic Press*. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.01.002
281. Wang, Z., Wu, J., Humphries, B., Kondo, K., Jiang, Y., Shi, X., & Yang, C. (2018). Upregulation of histone-lysine methyltransferases plays a causal role in hexavalent chromium-induced cancer stem cell-like property and cell transformation. *Toxicology and applied pharmacology*, 342: 22–30. doi: 10.1016/j.taap.2018.01.022
282. Wani, P. A., Wani, J. A., & Wahid, S. (2018). Recent advances in the mechanism of detoxification of genotoxic and cytotoxic Cr (VI) by microbes. *Journal of*



*environmental chemical engineering*, 6(4): 3798–3807. doi: 10.1016/j.jece.2018.05.042

283. Washington, I. M., & Van Hoosier, G. (2012). Clinical biochemistry and hematology. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 57–116). *Academic Press*.
284. Wise Jr, J. P., Young, J. L., Cai, J., & Cai, L. (2022). Current understanding of hexavalent chromium [Cr (VI)] neurotoxicity and new perspectives. *Environment international*, 158, 106877. doi: 10.1016/j.envint.2021.106877
285. Wu, G., Zhu, H., Wu, X., Liu, L., Ma, X., Yuan, Y., ... & Li, M. (2020). Anti-allergic function of  $\alpha$ -Tocopherol is mediated by suppression of PI3K-PKB activity in mast cells in mouse model of allergic rhinitis. *Allergologia et Immunopathologia*, 48(4): 395–400. doi: 10.1016/j.aller.2019.11.005
286. Xia, H., Ying, S., Feng, L., Wang, H., Yao, C., Li, T., Zhang, Y., Fu, S., Ding, D., Guo, X., Tong, Y., Wang, X., Chen, Z., Jiang, Z., Zhang, X., Lemos, B., & Lou, J. (2019). Decreased 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (hOGG1) expression and DNA oxidation damage induced by Cr (VI). *Chemico-Biological Interactions*, 299: 44–51. doi: 10.1016/j.cbi.2018.11.019
287. Xiao, Y., Zeng, M., Yin, L., Li, N., & Xiao, F. (2019). Clusterin increases mitochondrial respiratory chain complex I activity and protects against hexavalent chromium-induced cytotoxicity in L-02 hepatocytes. *Toxicology Research*, 8(1): 15–24. doi: 10.1039/c8tx00231b
288. Xu, J., Zhao, M., Pei, L., Zhang, R., Liu, X., Wei, L., Yang, M., & Xu, Q. (2018). Oxidative stress and DNA damage in a long-term hexavalent chromium-exposed population in North China: a cross-sectional study. *BMJ open*, 8(6): e021470. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021470
289. Xu, S., Chen, T., Dong, L., Li, T., Xue, H., Gao, B., Gao, B., Ding, X., Wang, H., & Li, H. (2021). Fatty acid synthase promotes breast cancer metastasis by mediating changes in fatty acid metabolism. *Oncology letters*, 21(1): 27. doi: doi.org/10.3892/ol.2020.12288

290. Yagishita, Y., Fahey, J. W., Dinkova-Kostova, A. T., & Kensler, T. W. (2019). Broccoli or sulforaphane: is it the source or dose that matters?. *Molecules*, 24(19): 3593. doi: 10.3390/molecules24193593
291. Yan J, Huang H, Liu Z, Shen J, Ni J, Han J, Wang R, Lin D, Hu B, Jin, L. (2020). Hedgehog signaling pathway regulates hexavalent chromium-induced liver fibrosis by activation of hepatic stellate cells. *Toxicology letters*. 320: 1–8. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.11.017
292. Yang, D., Han, B., Baiyun, R., Lv, Z., Wang, X., Li, S., Lv, Y., Xue, J., Liu, Y., & Zhang, Z. (2020). Sulforaphane attenuates hexavalent chromium-induced cardiotoxicity via the activation of the Sesn2/AMPK/Nrf2 signaling pathway. *Metallomics*, 12(12): 2009–2020. doi: 10.1039/d0mt00124d
293. Yang, D., Lv, Z., Zhang, H., Liu, B., Jiang, H., Tan, X., Lu, J., Baiyun, R., & Zhang, Z. (2017). Activation of the Nrf2 signaling pathway involving KLF9 plays a critical role in allicin resisting against arsenic trioxide-induced hepatotoxicity in rats. *Biological trace element research*, 176(1): 192–200. doi: 10.1007/s12011-016-0821-1
294. Yang, Q., Han, B., Li, S., Wang, X., Wu, P., Liu, Y., Li, J., Han, B., Deng, N., & Zhang, Z. (2022). The link between deacetylation and hepatotoxicity induced by exposure to hexavalent chromium. *Journal of advanced research*, 35: 129–140. doi: 10.1016/j.jare.2021.04.002
295. Yang, Q., Han, B., Xue, J., Lv, Y., Li, S., Liu, Y., Wu, P., Wang, X., & Zhang, Z. (2020). Hexavalent chromium induces mitochondrial dynamics disorder in rat liver by inhibiting AMPK/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway. *Environmental Pollution*, 265: 114855. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114855
296. Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3): 88–93.
297. Yousef, A. E., Abdel El Hakeim, T., & Thakeb, M. M. (2015). The antioxidant effect of garlic powder on rats treated by different doses of chromium chloride. *Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health*, 1(1): 379–388. doi: 10.21608/ejceh.2015.253585

298. Yu, Z., Xu, S. F., Zhao, J. L., Zhao, L., Zhang, A. Z., & Li, M. Y. (2021). Toxic effects of hexavalent chromium (Cr<sup>6+</sup>) on bioaccumulation, apoptosis, oxidative damage and inflammatory response in *Channa asiatica*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87: 103725. doi: 10.1016/j.etap.2021.103725
299. Yurkova, I. L., Stuckert, F., Kisel, M. A., Shadyro, O. I., Arnhold, J., & Huster, D. (2008). Formation of phosphatidic acid in stressed mitochondria. *Archives of biochemistry and biophysics*, 480(1): 17–26. doi: 10.1016/j.abb.2008.09.007
300. Zhang, Y., Ma, Y., Xiao, Y., Lu, C., & Xiao, F. (2020). Drp1-dependent mitochondrial fission contributes to Cr(VI)-induced mitophagy and hepatotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203: 110928. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110928
301. Zhao, L., Islam, R., Wang, Y., Zhang, X., & Liu, L. Z. (2022). Epigenetic Regulation in Chromium-, Nickel-and Cadmium-Induced Carcinogenesis. *Cancers*, 14(23): 5768. doi: 10.3390/cancers14235768
302. Zhao, M., Xu, J., Li, A., Mei, Y., Ge, X., Liu, X., Wei, L., & Xu, Q. (2020). Multiple exposure pathways and urinary chromium in residents exposed to chromium. *Environment International*, 141: 105753. doi: 10.1016/j.envint.2020.105753
303. Zhao, Y., Yan, J., Li, A. P., Zhang, Z. L., Li, Z. R., Guo, K. J., Zhao, K. C., Ruan, Q., Guo, L., & Guo, L. (2019). Bone marrow mesenchymal stem cells could reduce the toxic effects of hexavalent chromium on the liver by decreasing endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis via SIRT1/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway in rats. *Toxicology Letters*, 310: 31–38. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.04.007
304. Zhao, Y., Zhang, H., Hao, D., Wang, J., Zhang, D., Sun, Z., & Liu, C. (2022). Selenium alleviates chromium (VI)-induced ileum damage and cecal microbial disturbances in mice. *Biological Trace Element Research*, 200(11): 47504761. doi: 10.1007/s12011-021-03061-x
305. Zheng, X., Li, S., Li, J., Lv, Y., Wang, X., Wu, P., Yang, Q., Tang, Y., Liu, Y., & Zhang, Z. (2020). Hexavalent chromium induces renal apoptosis and autophagy via disordering the balance of mitochondrial dynamics in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 204: 111061. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111061

306. Zinellu, A., Arru, F., De Vito, A., Sassu, A., Valdes, G., Scano, V., Zinellu, E., Perra, R., Madeddu, G., Carru, C., Pirina, P., Mangoni, A. A., Babudieri, S., & Fois, A. G. (2021). The De Ritis ratio as prognostic biomarker of in-hospital mortality in COVID-19 patients. *European journal of clinical investigation*, 51(1): e13427. doi: 10.1111/eci.13427
307. Zingg, J. M. (2019). Vitamin E: regulatory role on signal transduction. *IUBMB life*, 71(4): 456–478. doi: 10.1002/iub.1986
308. Бучко, О. М., Гавриляк, В. В., Пилипець, А. З. (2019). Вплив добавки гумінової природи на антиоксидантну систему щурів, уражених шестивалентним Хромом. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 4(6): 316–320. doi: 10.26693/jmbs04.06.316
309. Влізло, В. В., Федорук, Р. С., Ратич, І. Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів: *Сполом*; 2012. 764 с.
310. Довгань, Н. Я., редактор. Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. Львів: *ВКП “ВМС”*; 1998. 131 с.
311. Котик Б., Іскра Р. (2020, 1–2 жовтня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфанілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в нирках щурів за дії Cr(VI) [Тези]. *V міжнародна наукова конференція актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології*, Дніпро, Україна, 135–137.
312. Котик Б., Іскра Р. (2022, 6–7 жовтня). Комплексний вплив вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст деяких показників протеїнового обміну у крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI) [Тези]. *XVIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів “Молодь і Поступ Біології”, присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера*, Львів, Україна, 124–125.
313. Котик Б., Іскра Р., Любас Н. (2022, 19 травня). Показники фосфоліпідного складу плазми крові щурів за впливу етилтіосульфанілату на фоні Хром(VI)-індукованої токсичності [Тези]. *XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора*

*біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, Львів, Україна, 34.*

314. Котик Б.І. (2018, 6–7 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфонілату на показники протеїнового обміну в крові щурів за дії хрому(VI) [Тези]. *XVII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук Третевича Володимира Івановича, Львів, Україна, 118.*
315. Котик Б.І., Золотоцька Л.Б., Маховська К.С. (2019, 5–6 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфанілату на показники оксидативного стресу в плазмі крові щурів за дії Хрому(VI) [Тези]. *XVIII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скорохода Володимира Йосиповича, Львів, Україна, 127.*
316. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2019, 30 вересня – 4 жовтня). Вплив етилтіосульфонілату та Хрому(VI) на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в крові щурів [Тези]. *XII Український біохімічний конгрес, Тернопіль, Україна, 99–100.*
317. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2020, 3–4 грудня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. *XIX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Яновича Вадима Георгійовича, Львів, Україна, 69.*
318. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2021, 6–7 травня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. *VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів “Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи”, Дніпро, Україна, 8485.*
319. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 2–3 березня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на показники ліпідного обміну крові щурів за токсичної дії Cr(VI). *VIII Міжнародний молодіжний конгрес “Сталий розвиток: захист*

*навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування*”, Львів, Україна, 146.

320. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 27–29 вересня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст окремих фосфоліпідних фракцій крові щурів за токсичної дії Cr(VI). [Тези]. *II Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція “Відкрита наука України: Візійний дискурс в умовах воєнного стану”*, Ужгород, Україна, 40–42.
321. Котик Б.І., Іскра Р.Я., Бучко О.М., Пилипець А.З., Слівінська О.М. (2019, 27–30 травня). Гематологічні показники, супероксиддисмутаза і каталазна активність в еритроцитах щурів за впливу хрому (VI) та етилтіосульфонілату [Тези]. *XX з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка*, Київ, Україна, 172–173.
322. Котик, Б. & Іскра, Р. (2021). Ліпідний склад плазми крові щурів за дії етилтіосульфанілату і хром (VI)-індукованої токсичності. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 85: 18–25. doi: 10.30970/vlubs.2021.85.02
323. Котик, Б., Іскра, Р., Сушко, О., Слівінська, О., Климець, Г., Бучко, О., Пилипець, А., & Приймич В. (2019). Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. *Біологія тварин*, 21(4): 38–45. doi: 10.15407/animbiol21.04.038
324. Лушчак, В. І., Багнюкова, Т. В., & Лушчак, О. В. (2004). Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурат-активні продукти і карбонільні групи білків. *Укр. біохім. журн.*, 76(3): 136–141.
325. Сибірна, Н. О., Бурда, В. А., & Чайка, Я. П. (2006). Методи дослідження систем крові : навчально-методичний посібник. *Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка*.

## ДОДАТОК А

### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

#### **Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:**

1. Котик, Б., Іскра, Р., Сушко, О., Слівінська, О., Климець, Г., Бучко, О., Пилипець, А., & Приймич В. (2019). Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. *Біологія тварин*, 21(4): 38–45. doi: 10.15407/animbiol21.04.038
2. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Slivinska, O. M., Liubas, N. M., Pylypets, A. Z., Lubenets, V. I., & Pryimych, V. I. (2020). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 92(5): 78–86. doi: 10.15407/ubj92.05.078
3. Kotyk, B., & Iskra, R. (2021). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of glutathione antioxidant system and oxidative stress markers content in rat kidneys. *Current Applied Science and Technology*, 21(4): 761–773. doi: 10.14456/cast.2021.61
4. Котик, Б., & Іскра, Р. (2021). Ліпідний склад плазми крові щурів за дії етилтіосульфанілату і хром (VI)-індукованої токсичності. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 85: 18–25. doi: 10.30970/vlubs.2021.85.02
5. Kotyk, B., Iskra, R., & Lubunets, V. (2022). Antioxidant effect of the complex action of vitamin E and ethylthiosulfanylate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2): 1405–1420. doi: 10.33263/BRIAC122.14051420
6. Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., & Merlavsky, V. M. (2023). Features of the influence of S-ethyl-4-aminobenzene thiosulfonate on some biochemical parameters of rat blood under the condition of Cr(VI) intoxication. *Studia Biologica*, 17(1): 49–60. doi:10.30970/sbi.1701.701
7. Kotyk, B. I. (2023). Effect of ethylthiosulfanylate in combination with vitamin E on certain biochemical blood parameters and hematological indicators of rats under the

influence of Cr(VI). *The Animal Biology*, 25(1): 31–37. doi: 10.15407/animbiol25.01.031

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

1. Kotyk B., Iskra R. (2018, June 10–14). Toxic Effect of Different Concentrations of Potassium Bichromate on Biochemical Parameters of Blood of Rats [Abstract]. Central and Eastern European Conference on Health and Environment (CEECHNE), Krakow, Poland, 17.
2. Котик Б.І. (2018, 6–7 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфонілату на показники протеїнового обміну в крові щурів за дії хрому(VI) [Тези]. XVII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук Третевича Володимира Івановича, Львів, Україна, 118.
3. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2019, 30 вересня – 4 жовтня). Вплив етилтіосульфонілату та Хрому(VI) на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в крові щурів [Тези]. XII Український біохімічний конгрес, Тернопіль, Україна, 99–100.
4. Котик Б.І., Іскра Р.Я., Бучко О.М., Пилипець А.З., Слівінська О.М. (2019, 27–30 травня). Гематологічні показники, супероксиддисмутазна і каталазна активність в еритроцитах щурів за впливу хрому (VI) та етилтіосульфонілату [Тези]. XX з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, Київ, Україна, 172–173.
5. Котик Б.І., Золотоцька Л.Б., Маховська К.С. (2019, 5–6 грудня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфонілату на показники оксидативного стресу в плазмі крові щурів за дії Хрому(VI) [Тези]. XVIII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скорохода Володимира Йосиповича, Львів, Україна, 127.



6. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2020, 3–4 грудня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. XIX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Яновича Вадима Георгійовича, Львів, Україна, 69.
7. Котик Б., Іскра Р. (2020, 1–2 жовтня). Біологічні особливості впливу етилтіосульфанілату на стан глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в нирках щурів за дії Cr(VI) [Тези]. V міжнародна наукова конференція актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології, Дніпро, Україна, 135–137.
8. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2021, 6–7 травня). Біологічні особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові щурів за дії Cr(VI) [Тези]. VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів “Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи”, Дніпро, Україна, 8485.
9. Kotyk B.I., Iskra R.Ya., Svarchevska O.Z. (2021, May 26–27). Biological features of ethylthiosulfanylate influence on the activity of antioxidant enzymes in rat kidneys under the action of Cr(VI) [Abstract]. “XV All-Ukrainian Conference of Young Scientists with International Participation”, dedicated to the 30th anniversary of Ukraine's Independence, Kyiv, Ukraine, 14.
10. Kotyk B., Iskra R. (2021, August 2–6). Effects of chromium(VI) and ethylthiosulfanylate on the glutathione reductase activity and reduced glutathione content in rat liver [Abstract]. International Conference of Trace Elements and Minerals (ICTEM), Aachen, Germany, 59.
11. Kotyk B., Liubas N., Iskra R. (2021, September 29–30). Effect of ethylthiosulfanylate on hematological indicators in blood of rats under the toxic effect of Chromium(VI) [Abstract]. The 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum “Agrobioprospectives”, Lviv, Ukraine, 60.

12. Котик Б., Іскра Р., Любас Н. (2022, 19 травня). Показники фосфоліпідного складу плазми крові щурів за впливу етилтіосульфанілату на фоні Хром(VI)-індукованої токсичності [Тези]. XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, Львів, Україна, 34.
13. Котик Б., Іскра Р. (2022, 6–7 жовтня). Комплексний вплив вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст деяких показників протеїнового обміну у крові щурів за умов інтоксикації Cr(VI) [Тези]. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів “Молодь і Поступ Біології”, присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера, Львів, Україна, 124–125.
14. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 2–3 березня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на показники ліпідного обміну крові щурів за токсичної дії Cr(VI) [Тези]. VIII Міжнародний молодіжний конгрес “Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування”, Львів, Україна, 146.
15. Котик Б.І., Іскра Р.Я. (2023, 27–29 вересня). Особливості впливу вітаміну Е та етилтіосульфанілату на вміст окремих фосфоліпідних фракцій крові щурів за токсичної дії Cr(VI). [Тези]. II Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція «Відкрита наука України: Візійний дискурс в умовах воєнного стану», Ужгород, Україна, 40–42.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

1. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets V. I. (2022) Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. The Ukrainian Biochemical Journal, 94(6): 18–29. doi:10.15407/ubj94.06.018
2. Любас, Н., Котик, Б., Іскра, Р. (2023, 18 травня). Глутатіонова ланка антиоксидантного захисту крові щурів за впливу естерів тіосульфонатів. [Тези] «XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених», Львів, Україна, 63.

3. Іскра, Р., Любас, Н., Котик, Б., Бедріло, А., Терлецька, М. (2023, 25–26 травня) Вплив тіосульфонатів на систему антиоксидантного захисту у нирках і печінці тварин. [Тези]. Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», Львів, Україна, 31–32.

## ДОДАТОК Б

# ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У НАВЧАЛЬНИЙ ПРОЦЕС



ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Професор кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Львівського національного університету Політехніка»  
доц. Давидчак О.Р.  
2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозицій для впровадження:**

Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів за дії Хрому шестивалентного.

**2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:**

м. Львів, вул. Василя Стуса, 38, Інститут біології тварин НААН  
молодший науковий співробітник Котик Б.І.

**3. Джерело інформації:**

1. Котик Б., Іскра Р., Сушко О., Слівінська О., Климець Г., Бучко О., Пилипець А., Приймич В. Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. Біологія тварин. 2019. Т.21, №. 4, с. 38-45.

2. Kotyk B., Iskra R., Lubunets V. Antioxidant effect of the complex action of vitamin e and ethylthiosulfanilate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. Biointerface Research in Applied Chemistry, Vol. 12, No. 2, pp. 1405-1420, 2022.

**4. Рекомендовано впровадити:** до використання у навчально-дослідницькій процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології при вивченні дисциплін «Біологія і фізіологія з основами анатомії», «Хімія канцерогенів».

**5. Термін впровадження:** з 01.03.2023 р.

**6. Ефективність впровадження** відповідно до критеріїв, що викладені в п.3

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, що впроваджує
Досліджено антиоксидантні властивості етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е в організмі лабораторних щурів за умов інтоксикації Cr(VI).		
Встановлено нормалізуючий ефект етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е на окремі ланки системи антиоксидантного захисту в організмі лабораторних щурів, яким вводили Cr(VI).		
Основні положення викладені в дослідженнях антиоксидантних властивостей етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е за умов інтоксикації Cr(VI) застосовується у навчально-дослідній роботі студентів та науковій роботі кафедри.		

**7. Зауваження, пропозиції:** продовжувати роботу по дослідженню впливу етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з іншими біологічно активними речовинами на метаболічні процеси в організмі за впливу важких металів та Cr(VI) зокрема.

Завідувач кафедри технології  
біологічно активних сполук,  
фармації та біотехнології

В.І. Лубенець

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з науково-педагогічної  
 роботи та інформатизації  
 Дрогобицького державного  
 педагогічного університету імені  
 Івана Франка,  
 к.ф.х.т., доц. Шаран В.Л.  
 2023 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:**  
 Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів за дії Хрому шестивалентного.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:**  
 м. Львів, вул. Василя Стуса, 38, Інститут біології тварин НААН  
 молодший науковий співробітник Котик Б.І.
3. **Джерело інформації:**
  1. Котик Б., Іскра Р., Сушко О., Слівінська О., Климець Г., Бучко О., Пиляпець А., Приймич В. Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. Біологія тварин. 2019. Т.21, №. 4, с. 38-45.
  2. Kotyk B., Iskra R., Lubunets V. Antioxidant effect of the complex action of vitamin e and ethylthiosulfanylolate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. Biointerface Research in Applied Chemistry, Vol. 12, No. 2, pp. 1405-1420, 2022.
4. **Рекомендовано впровадити:** до використання у навчально-дослідницькій процес кафедри біології та хімії при вивченні дисципліни «Регуляція обміну речовин».
5. **Термін впровадження:** з 17.03.2023 р.
6. **Ефективність впровадження** відповідно до критеріїв, що викладені в п.3

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, що впроваджує
<p>Досліджено антиоксидантні властивості етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е в організмі лабораторних щурів за умов інтоксикації Cr(VI).            Встановлено нормалізуючий ефект етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е на окремі ланки системи антиоксидантного захисту в організмі лабораторних щурів, яким вводили Cr(VI).            Основні положення викладені в дослідженнях антиоксидантних властивостей етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е за умов інтоксикації Cr(VI) застосовується у навчально-дослідній роботі студентів та науковій роботі кафедри.</p>		

7. **Зауваження, пропозиції:** продовжувати роботу по дослідженню впливу етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з іншими біологічно активними речовинами на метаболічні процеси в організмі за впливу важких металів та Cr(VI) зокрема.

Завідувач кафедри біології та хімії

*М.С.*

С.С. Монастирська

УЗГОДЖЕНО  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
Державного біотехнологічного університету  
Максим СЕРІК  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ  
В.о. ректора  
Державного біотехнологічного університету  
Андрій КУДРЯШОВ  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.



УЗГОДЖЕНО  
Проректор з наукової роботи  
Державного біотехнологічного університету  
Валерій МИХАЙЛОВ  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ результатів дисертаційної роботи у навчальний процес і науково-дослідну роботу

Дійсним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи **Котика Богдана Івановича**на тему: *«Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів за дії хрому шестивалентного»*, поданої на здобуття наукового ступеня **доктора філософії** спеціальністю 091 – Біологія та біохімія в галузі знань 09 – Біологія впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету.

**1. Вид впроваджених результатів:** експериментальні дані особливостей впливу етилтіосульфанілату зокрема та у поєднанні з вітаміном Е на метаболічні процеси в організмі лабораторних тварин за дії Cr(VI). Досліджено антиоксидантні властивості етилтіосульфанілату та у поєднанні з вітаміном Е в організмі щурів за умов інтоксикації хромом шестивалентним. Встановлено нормалізуючий ефект етилтіосульфанілату та у поєднанні з вітаміном Е на окремі ланки системи антиоксидантного захисту, протеїнового та ліпідного обміну в організмі лабораторних щурів, яким вводили Cr(VI). Отримані результати редокс-активності даної сполуки характеризують перспективи її використання у ветеринарній репродуктології.

**2. Форма впровадження:** статті у наукових виданнях: Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Slivinska, O. M., Liubas, N. M., Pylypets, A. Z., Lubenets, V. I., & Pryimych, V. I. (2020). Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 92(5): 78–86, doi: 10.15407/ubj92.05.078; Kotyk, B., Iskra, R., & Lubunets, V. (2022). Antioxidant effect of the complex action of vitamin E and ethylthiosulfanylate in the liver and kidneys of rats under conditions of chrome (VI)-induced oxidative stress. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2): 1405–1420, doi: 10.33263/BRIAC122.14051420; Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., & Merlavsky, V. M. (2023). Features of the influence of S-ethyl-4-aminobenzene thiosulfonate on some biochemical parameters of rat blood under the condition of Cr(VI) intoxication. *Studia Biologica*, 17(1): 49–60, doi:10.30970/sbi.1701.701; Kotyk, B. I. (2023). Effect of ethylthiosulfanylate in combination with vitamin E on certain biochemical blood parameters and hematological indicators of rats under the influence of Cr(VI). *The Animal Biology*, 25(1): 31–37, doi: 10.15407/animbiol25.01.031.

**3. Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких впроваджено результати дисертації:** дисципліна «Ветеринарна репродуктологія» та дисципліна «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин» (спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

**4. Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри:** протокол № 1 від 05 вересня 2023 року.

Завідувач кафедри ветеринарної хірургії  
та репродуктології, д-р вет. наук, професор

Дмитро СЛЮСАРЕНКО

Відповідальна за впровадження,  
д-р філософії з вет. мед., асистент

Всеволод КОШЕВОЙ