

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.5.18>

## Влияние диаллилтрисульфида и наночастиц меди на морфологию и функциональную активность печени

**В.Ю. Земко**

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2023. – Том 22, №5. – С. 18-25.

## The influence of diallyl trisulfide and copper nanoparticles on the morphology and functional activity of the liver

**V.Y. Ziamko**

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2023;22(5):18-25.

---

### Резюме.

Цель – изучить влияние диаллилтрисульфида и наночастиц меди на печень.

Материал и методы. Выделено 3 группы белых крыс-самцов весом 250-300 г: группа 1 (n=7) – контрольная, не подвергалась воздействиям, группа 2 (n=5) – вводили диаллилтрисульфид интражелудочно ежедневно, группа 3 (n=5) – наночастицы меди внутримышечно трехкратно с интервалом в 7 дней. Производили забор крови и печени для последующего биохимического, гистологического и иммуногистохимического исследований.

Результаты исследования. В обеих опытных группах наблюдалось достоверное снижение уровня общего белка по сравнению со здоровыми крысами в 1,2 раза (p=0,005). Уровень аспаратаминотрансферазы был выше в 1,8 раза в группе диаллилтрисульфида и составил 244 [232,9-264,5] U/L (p=0,022). Общий билирубин был достоверно выше в группе 3 в 1,8 раза и составил 26,5 [26,2-27,9] мкмоль/л (p=0,005). Внутривенное введение диаллилтрисульфида и наночастиц меди повышало компенсаторные приспособительные реакции печени за счет роста количества двуядерных гепатоцитов в 2,3 раза в двух опытных группах (p=0,009 и p=0,001 соответственно). Процент экспрессии CD68 в здоровой группе составил 62,0%, в группе наночастиц меди – 55,2% (p=0,082), в группе диаллилтрисульфида – 53,1% (p=0,080) и не различался.

Заключение. Введение диаллилтрисульфида и наночастиц меди снижало уровень общего протеина в сыворотке крови, повышало сывороточные уровни аспаратаминотрансферазы в группе диаллилтрисульфида и общего билирубина в группе наночастиц меди, что свидетельствует о наличии повреждения печени и потере функции. В ответ на введение диаллилтрисульфида и наночастиц меди в печень отмечен рост количества двуядерных гепатоцитов в 2,3 раза, что указывало на повышение компенсаторно-приспособительных реакций.

*Ключевые слова:* диаллилтрисульфид, наночастицы меди, печень, гепатотоксичность, компенсаторно-приспособительные реакции, CD68.

### Abstract.

Objectives. To study the effect of diallyl trisulfide and copper nanoparticles on the liver.

Material and methods. There were 3 groups of white male rats weighing 250-300 g: group 1 (n=7) was the control group, it was not exposed to any influences, group 2 (n=5) took diallyl trisulfide intragastrically daily, group 3 (n=5) got copper nanoparticles intramuscularly every 7 days. Blood and liver samples were taken for biochemical, histological and immunohistochemical studies.

Results. There was 1.2 times reliable decrease of total protein in both experimental groups (p=0.005). Aspartate aminotransferase was 1.8 times higher in diallyl trisulfide group and made up 244 [232.9-264.5] U/L (p=0.022). Total bilirubin was 1.8 times higher in group 3 and made up 26.5; [26.2-27.9] μmol/l (p=0.005). Intragastric administration of diallyl trisulfide and copper nanoparticles increased compensatory adaptive reactions of the liver due to 2.3 times increase

in the number of binuclear hepatocytes in both experimental groups ( $p=0.009$ ;  $p=0.001$ , respectively). The percentage of CD68 expression in healthy group was 62%, in copper nanoparticles group – 55.2% ( $p=0.082$ ), in diallyl trisulfide group – 53.1% ( $p=0.080$ ) and didn't differ.

Conclusions. The administration of diallyl trisulfide and copper nanoparticles reduced the level of total protein in blood serum, increased serum levels of aspartate aminotransferase in diallyl trisulfide group and total bilirubin in copper nanoparticles group, which indicates the presence of liver damage and loss of its function. In response to introduction of diallyl trisulfide and copper nanoparticles 2.3 times increase in the binuclear hepatocytes number was observed. It indicated an increase of compensatory adaptive reactions of the liver.

*Keywords: diallyl trisulfide, copper nanoparticles, liver, hepatotoxicity, compensatory adaptive reactions, CD68.*

## Введение

Резекция печени является окончательным решением на поздних стадиях заболеваний печени. Трансплантация печени от живого донора используется в медицинских целях ограничено из-за небольшой доступности доноров. Ингибирование передачи сигналов  $H_2S$  демонстрирует снижение скорости регенерации печени и повышение печеночного индекса. Повышение маркерных ферментов печени в сыворотке, таких как аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза и щелочная фосфатаза, дополнительно подтверждает повреждение гепатоцитов. Введение диаллилтрисульфида (ДАТС) в регенерирующую печень, согласно исследованиям Нитьянхан С. и соавторов, продемонстрировало усиление печеночных антиоксидантов (SOD, каталаза и GSH) и регенеративного потенциала (PCNA и Ki-67). Это исследование заключает, что передача сигналов  $H_2S$  в частично гепатэктомированной печени посредством ДАТС опосредована фосфорилированием  $Vcl-xL$  и Akt и повышает выживаемость гепатоцитов и регенерацию печени [1]. ДАТС также известен как аллитридин, или 4,5,6-тритиа-1,8-нонадиен, один из наиболее стабильных и безопасных встречающихся в природе полисульфидов, является привлекательным донором  $H_2S$  для исследований *in vivo* с прицелом на клиническую значимость [2, 3]. Более того, ДАТС проявляет противораковую химиотерапевтическую, иммуностимулирующую, антиоксидантную, антимикробную, гепатопротекторную, антифиброзную, антиэстрогенную, антиметастатическую, противовоспалительную, антиангиогенную и кардиозащитную активность. *In vivo* он ингибирует перекисное окисление липидов, увеличивает активность ферментов фазы II, таких как каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, и уменьшает дисфункцию печени, вызванную при

отравлении мышьяком. ДАТС также уменьшает отложение коллагена, активацию звездчатых клеток печени, фиброз и уровни проколлагена I и  $\alpha$ -SMA [4]. Обладая способностью активировать Nrf2, он также защищает нервные клетки от повреждения, вызванного кислородно-глюкозной депривацией [5]. Несмотря на способность ДАТС ингибировать пролиферацию клеток и запускать апоптоз в различных линиях раковых клеток, его механизм ингибирования активности звездчатых клеток печени остается неизвестным. Согласно данным Чен Л.Ю. и соавторов, ДАТС ингибировал пролиферацию клеток и индуцировал апоптоз гепатоцитов [6]. В то же время антиоксидантный и антиапоптотический потенциал ДАТС через  $H_2S$  уменьшал опосредованное этанолом повреждение гепатоцитов и стеатоз печени, защищал печень от ишемически-реперфузионного повреждения и действовал как химиопрофилактическое средство против фиброза печени, вызванного CCl<sub>4</sub>, путем подавления активации звездчатых клеток печени [7, 8]. ДАТС значительно снижает гепатотоксичность, опосредованную вальпроатом, за счет подавления NF- $\kappa$ B и воспаления печени. Полученные данные дают представление о потенциальном антифибротическом механизме ДАТС. Соответствующее исследование *in vivo* показало, что ДАТС проявляет защитный эффект на фиброз печени, вызванный диметилнитрозаминном у крыс [9].

Наночастицы меди (НЧ) также являются модуляторами апоптоза. В ходе экспериментального исследования Рузаков О.В. установил существенное воздействие НЧ меди на печень, а именно сокращение количества двуядерных гепатоцитов, что отражало угнетение репарационного деления клеток и рост активности звездчатых макрофагов. Наряду с тем, выявленный апоптоз свидетельствует о запуске патологической цепи, результатом которой являются необратимые структурные изменения в печени при введении НЧ меди [10].

В то же время не представлено убедительных данных о безопасной дозе НЧ металлов и структурно-функциональных изменениях, происходящих в тканях, при увеличении вводимой дозы в организм. Отдельные публикации сообщают о некоторых морфологических особенностях, происходящих в сосудистой части перипортальных гепатоцитов и в цитоплазме звездчатых макрофагов, в том числе признаки гидропической дегенерации, после однократного внутримышечного введения НЧ меди в дозе 2 мг/кг массы тела животных, которые исчезают на 7-е сутки. В то же время гепатотоксичность НЧ меди, регистрируемая при введении 6 мг/кг массы тела, включает следующие морфологические изменения в печени: венозную гиперемия в центральных венах и синусоидах, цитоплазматическую вакуолизацию, клеточное перерождение и некроз гепатоцитов [11].

Таким образом, изучение влияния ДАТС и НЧ меди на потенциал регенерации печени и поиск минимальной безопасной дозы представляются весьма актуальными и перспективными к использованию в клинической медицине, а именно пациентам с массивной резекцией печени или тяжелым заболеванием печени, так как могут способствовать ее регенерации. В то же время анализ CD68, преимущественно экспрессируемого тканевыми макрофагами, также позволяет оценить влияние препаратов на активность иммунной системы, что представляется важным для предотвращения гиперактивации звездчатых макрофагов и самоповреждения печени [12].

Цель – изучить влияние ДАТС и НЧ меди на функциональную активность, морфологию печени.

### Материал и методы

В ходе исследования изучено влияние химических веществ, а именно ДАТС (в виде 20%-ного водного раствора) и НЧ меди (99,5%, размер частиц 60-80 нм, производство Sigma-Aldrich, США) на морфологию, функциональную активность печени и экспрессию CD68.

Исследование проводилось на 17 взрослых самцах крыс-альбиносов линии Вистар весом 250-300 г. Обращение с животными соответствовало этическим принципам Комитета по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными Витебского государственного орден Дружбы народов медицинского университета (протокол №11 от 24.01.2022). Крысы были слу-

чайным образом разделены на три группы. Группа 1 (n=7) – контрольная, не подвергалась воздействиям. Группа 2 (n=5) – животные ежедневно в течение 30 дней получали ДАТС внутривентриально в дозе 500 мг/кг массы тела. Группа 3 (n=5) – животным вводили НЧ меди внутримышечно в дозе 2 мг/кг массы тела 1 раз в 7 дней. Длительность эксперимента составила 1 месяц. Ежедневно за животными наблюдали в фиксированное время и отмечали изменения в состоянии и поведении. В течение трех суток до выведения из эксперимента крысам вводили 0,5 мл трипанового синего внутривентриально. В конце экспериментального периода крысы голодали в течение ночи. Выводили крыс методом декапитации под легким эфирным наркозом. Собирали образцы крови. Сыворотки отделяли центрифугированием при 1500 об/мин в течение 7 минут и выдерживали при -10°C для последующей оценки активности аланинаминотрансферазы и аспаргатамино-трансферазы, общего билирубина, общего белка, альбумина, амилазы, мочевины, креатинина, мочевой кислоты, лактатдегидрогеназы, глюкозы, кальция, магния, фосфора. Образцы печени фиксировали в 10%-ом забуференном нейтральном формалине. С применением микротомы (Leica RM2135 Rotary Microtome, Wichita, KS, США) готовили срезы тканей толщиной 5 мкм, заливали парафином, окрашивали гематоксилином и эозином и трипановым синим и эозином для последующего гистопатологического исследования с помощью светового микроскопа Leica 2000 (увеличение 400) в 3 случайных полях зрения. Оценивали структуру печени, наличие инфильтрации, подсчитывали количество и размер гепатоцитов и их ядер, диаметр синусоидов. С помощью иммуногистохимии оценивали степень экспрессии иммунологического маркера CD68. Использовали моноклональное мышечное антитело anti-human CD68 в разведении 1:500 по стандартному протоколу, рекомендуемому фирмой-производителем (производство Elabscience, Китай), набор системы для визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System/with DAB Solution (производство Elabscience, Китай), систему для демаскировки антигенов Retrieve-All Antigen, буфер для разведения антител, фосфатно-солевой буфер [13]. Иммунореактивность первичных моноклональных антител CD68 выявляли с помощью вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой, входящей в набор реактивов по стандартной методике. Для оценки

степени экспрессии иммунологического маркера CD68 определяли локализацию окрашивания в клетках, процент и интенсивность положительно окрашенных клеток, которую выполняли с помощью светового микроскопа Leica 2000 (увеличение 400) со встроенной фотокамерой и программы анализа изображений ImageScore.

Результаты были статистически проанализированы с использованием программного обеспечения Statistika. Для каждой выборки определяли нормальность частотного распределения каждого признака по критерию Шапиро-Уилка. Так как выборки отличались от нормального распределения, для статистического анализа использовали критерий Манна-Уитни. Данные были выражены в виде медианы (Me), 25-ого (LQ) и 75-ого квартилей (UQ). Для оценки достоверности различий в экспрессии CD68 в клетках применяли тест Фишера. Для выявления степени взаимосвязи ис-

пользовали непараметрический критерий Спирмена.

### Результаты и обсуждение

Масса крыс в экспериментальных группах не различалась и составила 350 [333-378] г в группе 1, 404 [394-410] г – в группе 2 ( $p=0,088$ ), 350 [333-378] г – в группе 3 ( $p=0,291$ ).

Результаты лабораторных показателей крови контрольной и опытных групп в виде Me [LQ-UQ] представлены в таблице 1. Как видно из нее, по сравнению со здоровыми крысами в обеих опытных группах наблюдалась статистически доказанная гипопроteinемия в 1,2 раза, что является одним критериев развития печеночной недостаточности. В группе крыс, получавших ДАТС, уровень протеина составил 69,2 [69,2-69,3] г/л ( $p=0,005$ ), в группе, получавшей НЧ меди, – 70,5 [70,1-71,1]

Таблица 1 – Лабораторные показатели крови контрольной и опытных групп, Me [LQ-UQ]

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	$P_{\text{Манна-Уитни}}$
Глюкоза, ммоль/л	6,25 [6,2-6,95]	6,9 [6,5-7,35]	6,3 [6,3-6,6]	$p_{\text{но1}}=0,769$ $p_{\text{но2}}=0,885$
Общий белок, г/л	84,2 [77,0-87,6]	69,2 [69,2-69,3]	70,5 [70,1-71,1]	$p_{\text{но1}}=0,005^*$ $p_{\text{но2}}=0,005^*$
Альбумин, г/л	40,9 [38,2-45,35]	39,4 [38,5-40,3]	35,6 [33,6-36,6]	$p_{\text{но1}}=0,768$ $p_{\text{но2}}=0,088$
Аланинаминотрансфераза, U/L	72,65 [49,4-83,53]	58,1 [57,1-59,4]	45,1 [43,7-49,8]	$p_{\text{но1}}=0,768$ $p_{\text{но2}}=0,368$
Аспаратаминотрансфераза, U/L	135,85 [113,78-150,43]	244 [232,9-264,5]	190,4 [189,9-237,3]	$p_{\text{но1}}=0,022^*$ $p_{\text{но2}}=0,060$
Билирубин общий, мкмоль/л	5,5 [4,4-12,8]	14,8 [14,7-16,25]	26,5 [26,2-27,9]	$p_{\text{но1}}=0,088$ $p_{\text{но2}}=0,005^*$
Амилаза, U/L	1031,0 [750-1797,8]	1908 [1844-1972]	2003 [1802-2007,5]	$p_{\text{но1}}=0,170$ $p_{\text{но2}}=0,088$
Мочевая кислота, мкмоль/л	286,2 [256,1-292]	192,8 [188,3-244]	-	$p_{\text{но1}}=0,400$
Лактатдегидрогеназа, МЕ	3352,0 [2225-4766]	3444 [1825-4772]	-	$p_{\text{но1}}=1,000$
Мочевина, ммоль/л	5,34 [3,2-5,8]	5,1 [5,0-5,5]	6,91 [6,13-6,95]	$p_{\text{но1}}=1,000$ $p_{\text{но2}}=0,126$
Креатинин, мкмоль/л	78,4 [72,6-81,3]	75,5 [72-81,3]	75,8 [74,2-76,9]	$p_{\text{но1}}=0,885$ $p_{\text{но2}}=0,456$
Ca, ммоль/л	1,73 [1,29-2,56]	2,58 [2,5-2,64]	2,5 [2,48-2,76]	$p_{\text{но1}}=0,555$ $p_{\text{но2}}=0,225$
P, ммоль/л	1,01 [0,76-1,3]	2,7 [2,45-2,82]	2,36 [2,21-2,44]	$p_{\text{но1}}=0,022^*$ $p_{\text{но2}}=0,038^*$
Mg, ммоль/л	0,77 [0,74-0,82]	0,85 [0,82-0,87]	1,11 [1,03-1,17]	$p_{\text{но1}}=0,368$ $p_{\text{но2}}=0,022^*$

Примечание: \* – отмечены статистически значимые различия.

г/л ( $p=0,005$ ). Уровень аспаратаминотрансферазы был выше в 1,8 раза в группе ДАТС и составил 244 [232,9-264,5] U/L ( $p=0,022$ ). Общий билирубин был достоверно выше в группе 3 в 1,8 раза и составил 26,5 [26,2-27,9] мкмоль/л ( $p=0,005$ ). При анализе электролитного состава было установлено, что уровень фосфора был достоверно выше в обеих опытных группах и составил 2,7 [2,45-2,82] ( $p=0,022$ ) и 2,36 [2,21-2,44] ммоль/л ( $p=0,038$ ) соответственно, что имеет достаточно важное значение, учитывая, что гипофосфатемия повышает риск неблагоприятного прогноза [14]. Уровень магния был также выше в опытной группе 2 и составил 1,11 [1,03-1,17] ммоль/л ( $p=0,022$ ).

Морфологические показатели препаратов печени контрольной и опытных групп в виде Ме [LQ-UQ] представлены в таблице 2.

Согласно полученным результатам исследования введение ДАТС и НЧ меди повышало компенсаторно-приспособительные реакции печени

за счет роста количества двуядерных гепатоцитов в 2,3 раза в двух опытных группах ( $p=0,009$ ,  $p=0,001$  соответственно) и ядерно-цитоплазматического отношения в 1,4 раза в опытной группе 1 и 1,3 раза в опытной группе 2 ( $p=0,000$  для обеих групп) (рис.).

В то же время в обеих группах площадь гепатоцитов уменьшилась, вероятно, за счет сокращения общего числа ядер в группе ДАТС ( $p=0,000$  и  $p=0,011$  соответственно). Выявлена прямая сильная корреляция между площадью ядер и гепатоцитов, составившая 0,8 ( $p=0,000$ ). При изучении препаратов печени НЧ меди не зафиксировано, что подтверждает полную элиминацию НЧ меди через 7 суток после последнего введения и соответствует результатам исследования Рузакова О.В. и соавторов [10]. Более того окрашивание трипановым синим эозином не выявило очагов некроза во всех трех группах за счет отсутствия окрашивания клеток.

Таблица 2 – Морфологические показатели препаратов печени контрольной и опытных групп, Ме [LQ-UQ]

Показатель	Интактная группа	Опытная группа 1	Опытная группа 2	$p_{\text{Манна-Уитни}}$
Количество ядер	73 [63-78]	70,3 [65,6-75,4]	77 [74-84]	$p_{\text{но1}}=0,000^*$ $p_{\text{но2}}=0,086$
Количество двуядерных гепатоцитов	3 [2-5]	7 [5-9]	7 [6-7]	$p_{\text{но1}}=0,009^*$ $p_{\text{но2}}=0,001^*$
S ядер, мкм <sup>2</sup>	76,7 [62,8-150,0]	85,8 [73,4-101,8]	92,7 [76,1-105,5]	$p_{\text{но1}}=0,657$ $p_{\text{но2}}=0,292$
S гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	513,6 [417,0-803,1]	372,9 [323,4-427,9]	424,3 [379,1-523,6]	$p_{\text{но1}}=0,000^*$ $p_{\text{но2}}=0,011^*$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,16 [0,14-0,19]	0,23 [0,19-0,27]	0,20 [0,18-0,24]	$p_{\text{но1}}=0,000^*$ $p_{\text{но2}}=0,000^*$
D просвета синусоидов, мкм	1,45 [1,06-3,49]	1,94 [1,35-2,44]	1,78 [1,42-2,19]	$p_{\text{но1}}=0,800$ $p_{\text{но2}}=0,864$

Примечание: \* – отмечены статистически значимые различия.

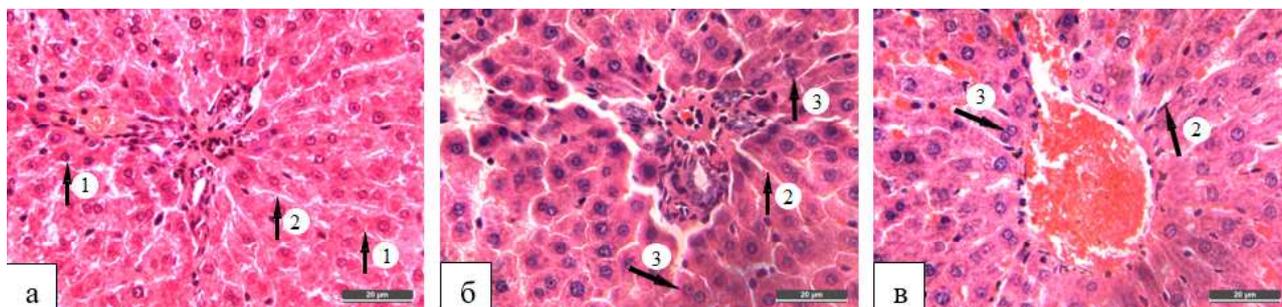


Рисунок – Морфологические изменения в печени крыс контрольной (а), опытной 1 (б) и опытной 2 (в) групп, окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение 400: 1 – четкие границы между гепатоцитами, 2 – синусоидные капилляры не расширены, 3 – двуядерные гепатоциты

Полученные данные частично согласовываются с результатом исследования Абделазама А. и соавторов, согласно которому было выявлено, что инъекция НЧ меди крысам повышала сывороточные уровни аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, общего билирубина и снижала уровень альбумина в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о наличии выраженного повреждения печени (гепатотоксичности), и в дальнейшем подтверждалось дегенерацией печени и некрозом, появившимся при гистопатологическом исследовании [15]. Однако следует отметить, что доза НЧ меди в вышеуказанном исследовании составила 100 мг/кг в течение 2-х недель, что превышало в 50 раз используемую нами. Эль-Магд также сообщал, что пероральное введение крысам НЧ меди вызывало заметное снижение уровня альбумина в сыворотке, указывая на повреждение печени и потерю функции, что свидетельствует о возникновении печеночной недостаточности [16].

Для изучения особенностей внутрипеченочного иммунного ответа при применении ДАТС и НЧ меди проведен сравнительный анализ показателей экспрессии иммунологического маркера CD68 на клетках печени. Несмотря на повышение числа резидентных макрофагов при внутрибрюшинной заправке на крысах НЧ по данным Рузакова О.В., а также их снижение при внутрижелудочном введении ДАТС совместно со стволовыми клетками при моделировании диабета на крысах, в данном исследовании процент экспрессии CD68 в контрольной группе составил 62,0%, в группе НЧ – 55,2% ( $p=0,082$ ), в группе ДАТС – 53,1% ( $p=0,080$ ), причем CD68-положительные клетки наблюдали преимущественно в синусоидных капиллярах и небольшое их количество отмечали около центральных вен и междольковых сосудов [10, 17].

### Заключение

Введение ДАТС и НЧ меди снижало уровень общего протеина в сыворотке крови, повышало сывороточные уровни аспаратаминотрансферазы в группе ДАТС и общего билирубина в группе НЧ меди, что свидетельствует о тяжелых функциональных нарушениях в печени и указывает на развитие печеночной недостаточности (гепатотоксичности). В то же время в ответ на введение ДАТС и НЧ меди в печени происходило повышение компенсаторно-приспособительных реакций

за счет роста количества двуядерных гепатоцитов в 2,3 раза.

*Работа выполнена в рамках темы НИР «Влияние печеночной дисфункции на развитие системного воспалительного ответа», договор с БРФФИ № M23M-046 от 02.05.2023.*

*The work has been done within the frames of the research theme “The influence of liver dysfunction on the development of systemic inflammatory response”, the agreement with BRFFR No. M23M-046 dated 02.05.2023.*

### Литература

- Enhanced hepatocyte survival and anti-apoptosis via Akt by Diallyl trisulfide, augments hepatic regeneration through hydrogen sulfide in partially hepatectomized rats / A. Nithyanathan [et al.] // *Phytomed. Plus.* 2021 Nov. Vol. 1, N 4. Art. 100048.
- Garlic Derived Diallyl Trisulfide in Experimental Metabolic Syndrome: Metabolic Effects and Cardioprotective Role / J. N. Jeremic [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2020 Nov. Vol. 21, N 23. Art. 9100.
- Diallyl trisulfide is a fast H<sub>2</sub>S donor, but diallyl disulfide is a slow one: The reaction pathways and intermediates of glutathione with polysulfides / D. Liang [et al.] // *Org. Lett.* 2015 Sep. Vol. 17, N 17. P. 4196–4199.
- Diallyl Trisulfide Protects Rat Brain Tissue against the Damage Induced by Ischemia-Reperfusion through the Nrf2 Pathway / C. A. Silva-Islas [et al.] // *Antioxidants (Basel).* 2019 Sep. Vol. 8, N 9. Art. 410.
- Miltonprabu, S. Diallyl trisulfide, a garlic polysulfide protects against As-induced renal oxidative nephrotoxicity, apoptosis and inflammation in rats by activating the Nrf2/ARE signaling pathway / S. Miltonprabu, N. C. Sumedha, P. Senthilraja // *Int. Immunopharmacol.* 2017 Sep. Vol. 50. P. 107–120.
- Diallyl trisulfide protects against ethanol-induced oxidative stress and apoptosis via a hydrogen sulfide-mediated mechanism / L. Y. Chen [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* 2016 Jul. Vol. 36. P. 23–30.
- Diallyl trisulfide plays an antifibrotic role by inhibiting the expression of Bcl-2 in hepatic stellate cells / H. Pang [et al.] // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2022 Aug. Vol. 36, N 8. Art. e23097.
- Diallyl trisulfide suppresses oxidative stress-induced activation of hepatic stellate cells through production of hydrogen sulfide / F. Zhang [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. Vol. 2017. Art. 1406726
- Apoptosis of rat hepatic stellate cells induced by diallyl trisulfide and proteomics profiling in vitro / Y. Zhang [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 201 May. Vol. 95, N 5. P. 463–473.
- Рузаков, В. О. Биологические эффекты воздействия наночастиц меди: маркеры экспозиции / В. О. Рузаков // *Гигиена и санитария.* 2023. Т. 102, № 3. С. 292–298.
- Sublethal effects of copper nanoparticles on the histology of gill, liver and kidney of the Caspian roach / S. Aghamirkarimi [et al.] // *Global J. Environmental Sci. Management.* 2017. Vol. 3, N 3. P. 323–332.

12. Реакция CD68-позитивных клеток печени и селезенки крыс на поступление кремния с питьевой водой / Е. А. Григорьева [и др.] // Acta Med. Eurasica. 2021. № 2. С. 34–43.
13. 2-step plus Poly-HRP Anti Mouse/Rabbit IgG Detection System (with DAB solution) [Electronic resource]. Mode of access: [https://www.elabscience.com/p-2\\_step\\_plus\\_poly\\_hrp\\_anti\\_mouse\\_rabbit\\_igg\\_detection\\_system\\_with\\_dab\\_solution\\_-356126.html](https://www.elabscience.com/p-2_step_plus_poly_hrp_anti_mouse_rabbit_igg_detection_system_with_dab_solution_-356126.html). Date of access: 16.10.2023.
14. Гипофосфатемия и исходы лечения пациентов в отделении анестезиологии и реанимации многопрофильного стационара / И. Г. Голубцов [и др.] // Вестн. ВГМУ. 2023. Т. 22, № 2. С. 54–61.
15. Amelioration of oxidative stress-mediated apoptosis in copper oxide nanoparticles-induced liver injury in rats by potent antioxidants / S. A. Abdelazeim [et al.] // Sci. Rep. 2020 Jul. Vol. 10, N 1. Art. 10812.
16. Eid, R. S. Effect of naringenin and hesperidin in amelioration of copper oxide nanoparticles toxicity in rat liver / R. S. Eid, M. M. Hussein, A. H. Soliman // AJMS. 2018. Vol. 1, N 1. P. 14–18.
17. Restoration of Hydrogen Sulfide Production in Diabetic Mice Improves Reparative Function of Bone Marrow Cells / Z. Cheng [et al.] // Circulation. 2016 Nov. Vol. 134, N 19. P. 1467–1483.

*Поступила 18.07.2023 г.  
Принята в печать 17.10.2023 г.*

### References

1. Nithyanathan A, Guha S, Mir I, Thirunavukkarasu C. Enhanced hepatocyte survival and anti-apoptosis via Akt by Diallyl trisulfide, augments hepatic regeneration through hydrogen sulfide in partially hepatectomized rats. *Phytomed Plus*. 2021 Nov;1(4):100048. doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100048
2. Jeremic JN, Jakovljevic VL, Zivkovic VI, Srejsovic IM, Bradic JV, Milosavljevic IM, et al. Garlic Derived Diallyl Trisulfide in Experimental Metabolic Syndrome: Metabolic Effects and Cardioprotective Role. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov;21(23):9100. doi: 10.3390/ijms21239100
3. Liang D, Wu H, Wong MW, Huang D. Diallyl trisulfide is a fast H<sub>2</sub>S donor, but diallyl disulfide is a slow one: The reaction pathways and intermediates of glutathione with polysulfides. *Org Lett*. 2015 Sep;17(17):4196-9. doi: 10.1021/acs.orglett.5b01962
4. Silva-Islas CA, Chánez-Cárdenas M E, Barrera-Oviedo D, Ortiz-Plata A, Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD. Diallyl Trisulfide Protects Rat Brain Tissue against the Damage Induced by Ischemia-Reperfusion through the Nrf2 Pathway. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Sep;8(9):410. doi: 10.3390/antiox8090410
5. Miltonprabu S, Sumedha NC, Senthilraja P. Diallyl trisulfide, a garlic polysulfide protects against As-induced renal oxidative nephrotoxicity, apoptosis and inflammation in rats by activating the Nrf2/ARE signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2017 Sep;50:107-20. doi: 10.1016/j.intimp.2017.06.011
6. Chen LY, Chen Q, Zhu XJ, Kong DS, Wu L, Shao JJ, et al. Diallyl trisulfide protects against ethanol-induced oxidative stress and apoptosis via a hydrogen sulfide-mediated mechanism. *Int Immunopharmacol*. 2016 Jul;36:23-30. doi: 10.1016/j.intimp.2016.04.015
7. Pang H, Wang C, Ye J, Wang L, Zhou X, Ge X, et al. Diallyl trisulfide plays an antifibrotic role by inhibiting the expression of Bcl-2 in hepatic stellate cells. *J Biochem Mol Toxicol*. 2022 Aug;36(8):e23097. doi: 10.1002/jbt.23097
8. Zhang F, Jin H, Wu L, Shao J, Zhu X, Chen A, et al. Diallyl trisulfide suppresses oxidative stress-induced activation of hepatic stellate cells through production of hydrogen sulfide. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1406726. doi: 10.1155/2017/1406726
9. Zhang Y, Zhou X, Xu L, Wang L, Liu J, Ye J, et al. Apoptosis of rat hepatic stellate cells induced by diallyl trisulfide and proteomics profiling in vitro. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017 May;95(5):463-73. doi: 10.1139/cjpp-2015-0527
10. Ruzakov VO. Biological effects of exposure to copper nanoparticles: markers of exposure. *Gigiena Sanitariya*. 2023;102(3):292-8. (In Russ.) doi: 10.47470/0016-9900-2023-102-3-292-298
11. Aghamirkarimi S, Moradi A, Sharifpour I, Jamili S, Mostafavi P. Sublethal effects of copper nanoparticles on the histology of gill, liver and kidney of the Caspian roach. *Global J Environmental Sci Management*. 2017;3(3): 323-32. doi: 10.22034/gjesm.2017.03.03.009
12. Grigoryeva EA, Gordova VS, Cergeeva VE, Smorodchenko AT. Response of CD68-positive rat liver and spleen cells to silicon ingestion with drinking water. *Acta Med Eurasica*. 2021;(2):34-43. (In Russ.)
13. 2-step plus Poly-HRP Anti Mouse/Rabbit IgG Detection System (with DAB solution). Available from: [https://www.elabscience.com/p-2\\_step\\_plus\\_poly\\_hrp\\_anti\\_mouse\\_rabbit\\_igg\\_detection\\_system\\_with\\_dab\\_solution\\_-356126.html](https://www.elabscience.com/p-2_step_plus_poly_hrp_anti_mouse_rabbit_igg_detection_system_with_dab_solution_-356126.html). [Accessed 16th October 2023].
14. Golubtsov IG, Dudko VA, Marochkov AV, Lipnitskiy AL, Tochilo SA. Hypophosphatemia and patient outcomes in the anesthesiology and intensive care unit of a multidisciplinary hospital. *Vestn VGMU*. 2023;22(2):54-61. (In Russ.)
15. Abdelazeim SA, Shehata NI, Aly HF, Eldin Shams SG. Amelioration of oxidative stress-mediated apoptosis in copper oxide nanoparticles-induced liver injury in rats by potent antioxidants. *Sci Rep*. 2020 Jul;10(1):10812. doi: 10.1038/s41598-020-67784-y
16. Eid RS, Hussein MM, Soliman AH. Effect of naringenin and hesperidin in amelioration of copper oxide nanoparticles toxicity in rat liver. *AJMS*. 2018;1(1):14-8. doi: 10.5455/ajms.3
17. Cheng Z, Garikipati VNS, Nickoloff E, Wang C, Polhemus DJ, Zhou J, et al. Restoration of Hydrogen Sulfide Production in Diabetic Mice Improves Reparative Function of Bone Marrow Cells. *Circulation*. 2016 Nov;134(19):1467-83. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022967

*Submitted 18.07.2023  
Accepted 17.10.2023*

**Сведения об авторах:**

В.Ю. Земко – к.м.н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>, e-mail: [viktoryiazia@gmail.com](mailto:viktoryiazia@gmail.com) – Земко Виктория Юрьевна.

**Information about authors:**

V.Y. Ziamko – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Anesthesiology and Resuscitation with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>, e-mail: [viktoryiazia@gmail.com](mailto:viktoryiazia@gmail.com) – Viktoriya Y. Ziamko.