

## РОЗДІЛ 2. БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТИНОК

### 2.1. Ензимоподібна активність наноматеріалів

XXI століття вважають періодом глобального застосування нанотехнології, яка пов'язана з сукупністю теоретично обґрунтованих та практичних методів дослідження, аналізу і синтезу, а також виробництва та використання продуктів із передбачуваною атомною структурою контрольованим маніпулюванням окремими атомами та молекулами [121]. Завдяки надзвичайно малим розмірам (до 100 нм) та великій площі поверхні на одиницю об'єму, наноматеріали мають специфічні хімічні, фізичні, та біологічні властивості, які є дуже корисними для багатьох нових застосувань. Виявлено багато наночастинок (NPs), що проявляють ферментативну активність та є потенційно здатними до застосування у різних галузях, зокрема у харчовій промисловості, фармації, біотехнології. Створення штучних ензимів, що імітують складність і функціонування природних систем, було великим досягненням останніх двох десятиліть. З бурхливим розвитком нанотехнологій створюються численні каталітично активні наноматеріали [69]. Нині у біології, медицині та біотехнології застосовують наноматеріали різного походження (рис. 2.1).

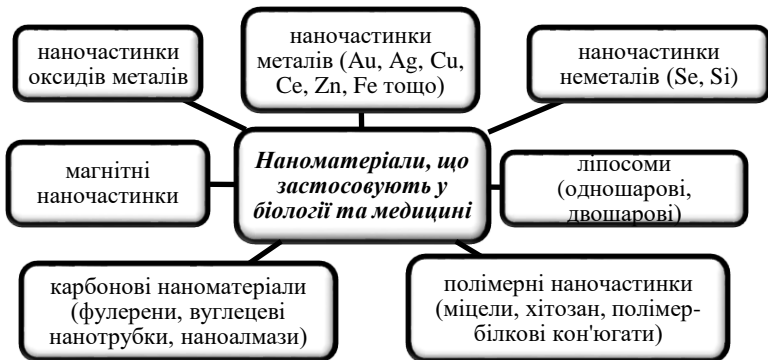


Рис. 2.1. Наноматеріали, що застосовують у біології та медицині

Серед них наноматеріали з ферментно-міметичними властивостями, такі як наночастинки металів та неметалів, їх

оксида, магнітні наночастинки, ліпосоми, карбонові та полімерні наноматеріали. Вони характеризуються як потенційна альтернатива природним ензимам і широко застосовуються в багатьох галузях, таких як імуноаналіз, біосенсорика, фармацевтичні процеси, онкотерапія, харчова промисловість, екологія тощо [63; 64; 111; 183; 203; 332]. Це доводить велику важливість та комерційні інтереси використання наноматеріалів як ферментних міметиків. Порівняно з ферментами натурального походження, міметики на основі наноматеріалів здатні змінювати каталітичну активність, мають стабільність у жорстких умовах, їх виробництво порівняно нескладне та економічно виправдано [65]. Циклічність дії наночастинок та можливість відновлення без суттєвої втрати в наступних циклах каталітичної активності робить їх унікальними сполуками [353]. Окрім того, поверхня наноматеріалів на відміну від природних ензимів, які мають лише один активний сайт у молекулі, можуть мати більше каталітичних центрів [126; 199]. Ці міметики ферментів мають велике значення в практичному застосуванні [121; 189; 353; 362].

Основними вимогами до наночастинок щодо використання їх у біології та медицині є низька чи відсутня токсичність, висока біосумісність, здатність до біодеградації чи виведення з організму натуральним способом [13; 47; 111; 168].

Каталітична активність наночастинок та здатність інактивувати активні форми кисню можуть бути використані для імітації каталітичної активності природних ензимів. Нині досліджено різні наночастинки та виявлено їх ензимоміметичну активність: супероксиддисмутазоподібну, оксидазоподібну, пероксидазоподібну, каталазоподібну та фосфатазну [69; 131].

### **2.1.1. Загальна характеристика міметиків**

Міметики – сполуки, які імітують дію інших субстанцій, водночас є схожими на утворені в організмі речовини (ферменти, гормони, медіатори). Клітинні рецептори реагують на міметики як на субстанцію, з якою вони взаємодіють [295]. За фізико-хімічними властивостями міметики подібні до природних сигнальних молекул, однак їм притаманна низка важливих якостей (рис. 2.2). Вони зв'язуються з молекулярними рецепторами, призначеними не для них, підміняють собою природні регулюючі речовини.

Міметики можуть діяти сильніше чи слабше, аніж сполуки, які вони підміняють, тобто мати варіацію ефекту. Вони здатні конкурувати з природними сигнальними молекулами за зв'язок з рецепторами (за концентрацією та афінізацією).



Рис. 2.2. Властивості міметиків ензимів

Період функціонування міметиків у незмінному стані в організмі та час зв'язування із рецепторами різняться від природних сполук. Утворення в організмі власних регулюючих речовин унаслідок зворотного зв'язку між концентрацією регуляторів та їх виробництвом обумовлюється наявністю міметиків [13].

Термін «нанозим» введено для наноматеріалів із власною ферментоподібною активністю, щоб відрізнити ці наноконплекси від іммобілізованих ферментів [353]. Розроблення високоефективних небілкових аналогів ензимів є актуальним завданням сучасної біології, біотехнології, медицини та сільського господарства [47; 87]. Нині вже створено кілька типів штучних ферментів, що замінюють природні аналоги [1; 168; 232].

Природні ензими і міметики мають багато спільних властивостей: вони прискорюють швидкість хімічних реакцій та

здатні до регенерації [13; 168]. Природні ензими, на відміну від штучних, потребують особливих умов навколишнього середовища, зокрема певної температури та рН [124]. Такі унікальні властивості наноматеріалів можуть використовуватися для профілактики, діагностування та лікування захворювань. Багато наноматеріалів мають потужні антиоксидантні властивості, які потенційно можуть функціонувати як інгібітори активних форм кисню. Однак також було доведено, що окремі наноматеріали мають прооксидантні властивості, сприяють утворенню активних форм кисню, що може призвести до виникнення оксидативного стресу, який спричиняє розвиток різних патологій [1; 293]. Однією із важливих особливостей наноензимів порівняно із природними ферментами та іншими міметиками є те, що їх активність може регулюватися зміною структури, розмірів, модифікації поверхні, введення захисних оболонок тощо [98; 168; 199]. Встановлено зв'язок між каталітичною активністю, терапевтичною ефективністю та біосумісністю окремих міметиків [69]. Виявлено, що чим менший розмір частинок, тим вище їх каталітична активність. Таке явище обумовлено тим, що менші наночастинки мають більшу площу поверхні для взаємодії із субстратом. Це свідчить про можливість синтезу наночастинок із заданою активністю та властивостями [126]. На ферментноміметичну активність наноматеріалів впливають кілька чинників, зокрема, їх хімічний склад, поверхневий заряд, розмір частинок та покриття поверхні [68; 270; 271; 280; 285; 338]. Однак як позитивні, так і токсичні ефекти NPs можуть бути різними, оскільки метод синтезу, вибір стабілізаторів, що покривають частинки, здатні призвести до різного біологічного ефекту [93]. Важливим є розуміння того, які фізико-хімічні властивості співвідносяться з біологічною активністю, та є критичними для того, щоб з'ясувати умови, які сприяють позитивному впливу, і зрозуміти, за яких обставин виникають токсичні властивості.

Існує перспектива використання наноматеріалів для медичних та промислових потреб [24; 271]. Вважається, що їх потужна активність надає ефективніше знешкодження різних типів активних форм кисню [271]. Встановлено антиоксидантну активність різних металевих нанокompatитів, таких як золото [35; 95], платина [153; 163; 225], залізо [245; 280; 319; 326], нікель [267],

церій [162] та ітрій [278]. Інтенсивно досліджують наночастинки (NPs) оксидів металів [168]. Вони успішно застосовуються у лікуванні низки патологій, мають високу колоїдну стійкість та біосумісність [123].

Наночастинки з властивою для них антиоксидантною активністю, яка обумовлена здатністю проявляти ферментноміметичну дію, можуть бути перспективним терапевтичним засобом, який можна застосовувати з метою адресного доставлення ліків [226]. Однак у разі застосування наночастинок необхідно враховувати такі питання як метаболізм, кліренс, деградація, біосумісність та побічні ефекти, оскільки окремі наночастинки мають потенціал для тривалого утримання в органах, зокрема печінці та селезінці [69]. Взаємодія наночастинок з локальним середовищем має важливе значення у їх розподілі та довготривалій стабільності [83].

### **2.1.2. Наноматеріали як міметики SOD**

Супероксиддисмутаза – це ензим, який функціонує для каталітичного перетворення супероксидного радикала на кисень та пероксид водню. Каталітично активним металом цього ферменту може бути Cu, Fe, Mn.

Супероксидний радикал, який утворюється переважно в мітохондріях та, у разі приєднання протонів, здатний перетворюватися у гідропероксидний, є однією з найбільш руйнівних активних форм кисню (рис. 2.3) [207; 348]. Відомо, що SOD інактивує супероксид-аніон у дві стадії з утворенням пероксиду гідрогену і кисню [288]. За таких умов загальна реакція дисмутації супероксид-аніону для наночастинок також має дві стадії [168]. SOD-подібна активність притаманна різним наночастинкам оксидів металів, зокрема, nano-TiO<sub>2</sub> [390], ZnO [182], Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [158], NiO-NPs [100], Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [372], LaCoO<sub>3</sub> [348], CeNPs [37; 133], Pt [353], Au [189] та неметалів: SiO<sub>2</sub> [103; 300] й Se [125]. Ці міметики зумовлюють значну зацікавленість, оскільки характеризуються багатofункціональністю, підвищеною стабільністю та регульованою активністю.

Однією з перших було виявлено супероксиддисмутазну активність наночастинок діоксиду церію [295]. У разі дисмутації супероксид-аніону відбувається утворення пероксиду гідрогену і

перехідної сполуки – гідропероксиду церію  $\text{Ce}(\text{OOH})(\text{OH})_3$  на поверхні нанодисперсного діоксиду церію, тобто фактично відбувається три реакції [37]:

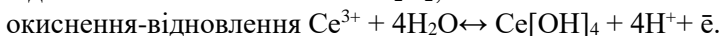
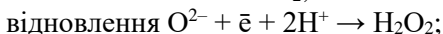
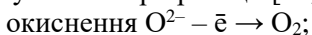


Рис. 2.3. Ферментоподібні властивості наноматеріалів: ТМВ (3,3,5,5–тетраметилбензидину), DOPA (дигідроксифенілаланін) (адаптовано [296])

Оброблення наночастинок церію  $\text{H}_2\text{O}_2$  спричиняє повну втрату SOD-подібної активності, однак через певний проміжок часу активність відновлюється, що засвідчує процес спонтанної регенерації поверхні наночастинок (щодо кисневої нестехіометрії) і відновлення до тривалентного церію [13; 126]. Активність наночастинок залежить від їх розміру. NPs, розмір яких становить 3–5 нм інтенсивніше інактивують супероксид-аніон, аніж більші наночастинок (5–8 нм). Ефективність наночерію діяти як міметик SOD пропорційна концентрації іонів  $\text{Ce}^{3+}$  на поверхні частинок [232]. Наявність інших іонів, зокрема іонів титану, гальмує цю активність [392]. SOD-подібна активність наночастинок залежить від іонного складу розчину [219]. За дії фосфат-іонів відбувається фосфорилування поверхні частинок, що спричиняє зниження їх здатності проявляти функції SOD і каталази.

### 2.1.3. *Наноматеріали як міметики каталази*

Поряд із супероксиданіонрадикалом пероксид гідрогену також є активною формою кисню, який знешкоджується за участю каталази. Встановлено, що низка наночастинок ефективно захищають клітини і тканини від токсичного впливу  $\text{H}_2\text{O}_2$  [4; 344] та інших пероксидів [313].

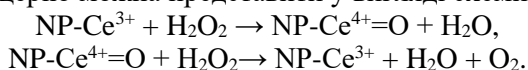
Наночастинки  $\text{Mn}_3\text{O}_4$  [372],  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Co}_3\text{O}_4$  та  $\text{CeO}_2$  [353],  $\text{LaCoO}_3$  [348],  $\text{NiO-NPs}$  [100],  $\text{Au}$  [189] імітують активність каталази. В умовах фізіологічних реакцій, зокрема субстрат, оптимальні значення рН і температури, окремі наночастинки, зокрема оксиду феруму, проявляють каталазо- та пероксидазоподібну активність [126]. Наночастинки  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  та  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  розкладають  $\text{H}_2\text{O}_2$  у нейтральному та лужному середовищах, однак виявлено, що  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  характеризувався вищою каталазоміметичною активністю. Подібно пероксидазоподібній активності, діапазон рН має вирішальне значення в ефективності цієї реакції [63; 126]. Singh et al. [298] повідомляють про здатність графенів імітувати функцію каталази за  $\text{pH} \geq 7,2$ .

Механізм міметичної дії наночастинок складний та повністю не розшифрований. Гринько та співав. [4] зазначають, що процес розкладання  $\text{H}_2\text{O}_2$  наночастинами подібний механізму дії каталази. Інтенсивність каталазоміметичної дії наночастинок перехідних металів, зокрема церію, обумовлена кількістю іонів тривалентного Се на їх поверхні [79; 232; 369]. На реакційну активність щодо пероксиду гідрогену впливають розмір наночастинок і поверхневі ліганди [126; 179]. Невеликі за розміром наночастинки  $\text{CeO}_2$ , та ті, що містять більшу кількість оксиду, проявляють підвищену реакційну здатність щодо  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Перебігу реакції розкладу не перешкоджає поверхневий ліганд. Концентрації іонів  $\text{Ce}^{3+}$  на поверхні наночастинок  $\text{CeO}_2$  пропорційно впливає на їх каталазоподібну дію [232]. Доведено можливість ефективного багаторазового використання як антиоксиданта наночастинок  $\text{CeO}_2$ . Така дія обумовлена тим, що спочатку іони  $\text{Ce}^{3+}$ , які знаходяться на поверхні наночастинок, окиснюються пероксидом гідрогену з утворенням  $\text{Ce}^{4+}$ .

Водночас  $\text{H}_2\text{O}_2$  незворотно адсорбується на поверхні гідратованих іонів  $\text{Ce}^{4+}$ , утворюючи пергідроксид церію. Зі свого

боку пергидроксид розкладається з утворенням кисню. Після витрати всього пероксиду гідрогену у системі частина іонів чотиривалентного церію внаслідок реконструкції (відновлення) кристалічної решітки наночастинки повертається у вихідний стан  $\text{Ce}^{3+}$  [4; 58; 168]. Ці процеси можливі у разі виникнення кисневих вакансій, які сприяють утворенню кисневої нестехіометрії та підвищення частки атомів церію із ступенем окиснення III.

Сукупність процесів, які відбуваються на поверхні наночастинок церію можна представити у вигляді схеми:



Іони різних металів здатні модифікувати каталазоподібну активність наночастинок [327]. Так, у разі допірування в кристалічну решітку діоксиду церію іонів цирконію спостерігали активацію розкладу пероксиду гідрогену, яка прямопропорційно залежала від мольного співвідношення  $\text{Zr} / \text{Ce}$ . Celardo et al. [58] зазначають протилежну дію за введення іонів Самарію в кристалічну решітку  $\text{CeNPs}$ . Автори спостерігали монотонне зниження швидкості розкладання пероксиду гідрогену, яке залежало від вмісту Самарію.

Виявлено, що нанополіедри з високою концентрацією іонів  $\text{Ce}^{4+}$  сприяли міметичній активності каталази, тимчасом нанотрубки та нанопорошки з високою концентрацією іонів  $\text{Ce}^{3+}$  підвищували міметичну активність SOD [228]. Ці результати доцільно використовувати для конструювання наночастинок, спрямованих на посилення ферментної міметичної активності з терапевтичною метою. Встановлено, що біоміметичні штучні ферменти на основі антиоксидантних наночастинок  $\text{CeO}_2$  стають люмінесцентними за їх легування  $\text{Eu}^{3+}$  [252].

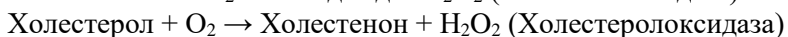
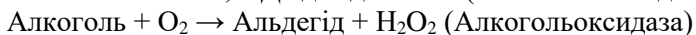
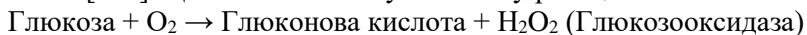
#### **2.1.4. Наноматеріали як міметики оксидази**

Останніми десятиліттями широко вивчали ферментоподібні властивості наноматеріалів, однак здебільшого увагу приділяли SOD-подібній, пероксидазо- та каталазоподібній активності цих наноматеріалів. Нині розпочали дослідження наноматеріалів, які мають оксидазоподібні властивості.

Оксидази – це ензими класу оксидоредуктаз, що каталізують окисно-відновну реакцію, яка містить молекулярний кисень як



акцептор електронів. Під час перебігу реакцій, які каталізуються оксидазою, субстрат окиснюється молекулярним киснем з утворенням води, пероксиду гідрогену чи вільних кисневих радикалів [295]. Ці ензими каталізують низку реакцій:

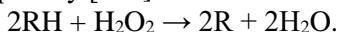


Існує низка робіт щодо вивчення оксидазоміметичної дії наночастинок. Доведено, що наночастинок рутенію (Ru) проявляють власну оксидазну активність, каталізуючи окиснення тетраметилбензидина (ТМБ) та L-аскорбата натрію розчиненим киснем [54]. Аналогічну активність проявляють наночастинок Pt [81], Au [130], Ir [72],  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  [384],  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  [311],  $\text{MnO}_2$  [365],  $\text{CeO}_2$  [78; 93],  $\text{NiCo}_2\text{O}_4$  [302], Se [125] та інші метали і композити. Водночас встановлено, що максимальна міметична активність залежить від окремих фізичних параметрів. Так, наночастинок Se проявляли оптимальну каталітичну активність за pH 4 і 30 °C, а оксидазоподібна активність була вищою зі збільшенням їх концентрації та зменшенням розміру [125]. Максимальна активність наночастинок іридію (IrNPs), які синтезовані за допомогою цитрату натрію з використанням  $\text{NaBH}_4$ , була за їх середнього діаметру 2,5 нм [72]. Chen et al. [62] повідомили про першу спробу використання наночастинок на основі графенів (гібриди GQD/AgNPs). Ці наночастинок демонструють високу оксидазоподібну активність та залишаються стабільними у нейтральному середовищі за температури до 60 °C. Допінування наночастинок  $\text{CeO}_2$  титаном не призводило до зниження їх оксидазоміметичної активності, однак супроводжувалося зміною форми сферичної наноструктури [392].

### 2.1.5. *Наноматеріали як міметики пероксидаз*

Пероксидаза – фермент, що каталізує окиснення поліфенолів і деяких ароматичних амінів за допомогою кисню, пероксиду гідрогену або органічних пероксидів. Пероксидаза утворює з пероксидом гідрогеном комплексну сполуку, в результаті чого пероксид активується і набуває здатності діяти як акцептор

гідрогену [238].



Пероксидази як кофактор в активних центрах містять гем, або редокс-активний цистеїн чи селен [335]. Є кілька типів пероксидаз, таких як глутатіонпероксидази, мілопероксидази, галоїдпероксидази, лактопероксидаза тощо [238].

Починаючи з 2007 року, коли було вперше зареєстровано ферментоподібну пероксидазну активність наночастинок  $Fe_3O_4$ , виявлено понад 40 наноматеріалів-міметиків [147]. Встановлено, що наноматеріали, які характеризуються пероксидазною активністю, мають переваги, зокрема високу стабільність і низьку вартість синтезу [131; 295].

Пероксидазна активність характерна для наночастинок  $Co_3O_4$  [144],  $Cu_2O$  [64; 126],  $FeS$  [90],  $CeO_2$  [313],  $Au/CeO_2$  [41],  $CoFe_2O_4$  [101],  $BiFeO_3$  [206],  $MnFe_2O_4$  [339],  $CdS$  [113],  $FeSe$  [90],  $FeTe$  [148], родію [67],  $ZnFe_2O_4$  [387],  $FeNPs@Co_3O_4$  [386], оксиду графену [340], фулерену [341] та вуглецевих нанотрубок [345]. Це дає можливість застосовувати їх для імуноаналізу, виявлення глюкози, захисту від вільних радикалів тощо. Значна ферментативна активність таких наночастинок (за наявності ядра та оболонки) зберігається за екстремальних значень рН (2–11) та високої температури (до 90 °C), що свідчить про їх перевагу над природними ферментами.

Антиоксиданти на основі селену та телуру можуть діяти як міметики глутатіонпероксидази, здатні зменшувати оксидативний стрес у разі запальних процесів та інших патологічних станів [135; 137; 204]. Nano-Se проявляє кращу антиоксидантну дію, ніж інші хімічні форми селену, водночас знижуючи ризик його токсичності [346]. Антиоксидантні властивості наночастинок Селену ефективніші порівняно з іншими сполуками селену та менш токсичні, ніж селенометіонін [SeMet].

Досліджено внутрішню потрійну ферментно-міметичну активність наночастинок нікель-паладій ( $NiPd$  HNPs) [350],  $LaCoO_3$  [348] та  $V_6O_{13}$  [181]. Мультиміметичні частинки  $NiPd$  і  $V_6O_{13}$  проявляють оксидазоподібну, пероксидазоподібну та каталазоподібну активності, є надійними, недорогими та легко синтезуються. На основі оксидазоподібної та пероксидазоподібної активності розроблено колориметричний біосенсор для виявлення глутатіону

та флуоресцентну систему для виявлення  $H_2O_2$  й глюкози. Нещодавно було виявлено здатність золотих наноматеріалів проявляти міметичну активність [189]. Наночастинки золота, як мультиміметики, відзначалися імітацією пероксидази, нуклеази, естерази, глюкозооксидази, каталази та супероксиддисмутази. Автори зазначають, що ці ензимоподібні характеристики обумовлені самим нанозолотом або функціональними групами, які присутні у навколишньому моношарі.

Zhao et al. [386] вперше повідомляють про конструювання мезопористих наноструктур на основі  $Co_3O_4$  для диспергування каталітично активних сайтів з метою допірування наночастинок заліза (FeNPs). Композити ( $FeNP@Co_3O_4$ ) мають високу пероксидазну активність, яка є значно вищою, ніж у наночастинок заліза та  $Co_3O_4$ . Висока каталітична активність наночастинок  $FeNP@Co_3O_4$  обумовлена його пористо-порожнистою структурою, яка є зручною для дисперсії утворених наночастинок і зменшення агломерації.

Наночастинки Au,  $MnO_2$ ,  $Fe_3O_4$ , CuO,  $Co_3O_4$  та  $CeO_2$  спричиняли підвищення активності глутатіонпероксидази [353]. Liu et al. [196] показали, що стабілізовані наночастинки  $MnO_2$  імітують активність пероксидази, і їх почали застосовувати в імуноаналізі під час колориметричних вимірювань. Нові наноматеріали типу  $Co_9S_8$  з ефективною внутрішньою пероксидазоподібною активністю можна застосовувати для колориметричного зондування іонів міді [227].

Іони перехідних металів, таких як Fe, мають пероксидазну активність та здатні інактивувати гідроксильні радикали за допомогою загального механізму, подібного до реакцій Фентона [125; 295]. Khedri et al. [158] відзначають пероксидазну активність наночастинок  $Fe_3O_4$ NPs, покритих хітозаном.

Подібно природним ензімам ферментноміметична активність наночастинок може стимулюватися чи інгібуватися деякими хімічними сполуками. Так, нуклеотиди, зокрема АМФ, здатні підсилювати пероксидазоподібну активність наночастинок  $Fe_3O_4$  за нейтрального рН комплексоутворенням [370]. Інгібувати цю міметичну активність можуть азид натрію, аскорбінова кислота та катехоламіни [191]. Сульфідні іони здатні інгібувати пероксидазоподібну активність нанокластерів купруму [190].

Встановлено, що наночастинки  $\text{TiO}_2$  проявляючи міметичну активність, здатні приєднуватися у fotocутливий біокаталітичний каскад, активізувати лужну фосфатазу, а згодом і пероксидазу [191]. Бромований графен [GBR] із вмістом броду  $\sim 3\%$  мав міметичну активність пероксидази щодо 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). Оптимальну активність спостерігали за рН 4,48 [297].

### **2.1.6. Наноматеріали як міметики фосфатаз**

Фосфатази каталізують гідроліз складних естерів фосфорної кислоти в живих організмах. Функцією фосфатаз є підтримання рівня фосфату, необхідного для різних біохімічних процесів. Фосфатаза бере участь у біологічних процесах, таких як проліферація клітин, трансдукція сигналів, обмін речовин, міжклітинна комунікація тощо. Вперше фосфатазоподібну активність вивчали у наночастинок церію [170]. Наночастинки  $\text{CeO}_2$  проявляють фосфатазоміметичну активність щодо гідролізу органічних естерів фосфатної кислоти, водночас цьому встановлено залежність швидкості реакції від рН [295]. Припускають, що у разі цієї реакції відбувається відщеплення фосфату та його адсорбція на поверхні наночастинок. На думку Korsvik et al. [168], наночастинки діоксиду церію не є повноцінними аналогами фосфатази, оскільки фосфатна група зв'язується з поверхнею наночастинок незворотно. Надалі фосфат церію десорбується, а поверхня наночастинок повторно здатна залучатися до каталітичних реакцій. Нанодисперсний діоксид церію використовують для концентрування та кількісного дефосфорилування фосфопротеїнів [145]. Він також здатний стимулювати фосфорилування мітоген-активної білкової кінази у бронхіальних епітеліоцитах людини (Beas2B), водночас проявляючи прооксидантні властивості [243].

Активация ядерного транскрипційного чинника NF- $\kappa$ B залежить від фосфорилування білка-інгібітора I $\kappa$ B $\alpha$ -кіназами (IKK) [250]. NF- $\kappa$ B функціонує як один з найважливіших внутрішньоклітинних месенджерів, що поєднує найрізноманітніші сигнали навколишнього середовища з експресією численних клітинних генів. NF- $\kappa$ B регулює різноманітні біологічні процеси: ріст клітин, їх виживання, розвиток тканин, імунні реакції та запальні процеси.

Порушення регулювання сигнальних механізмів, основою яких є NF-κB, пов'язані з такими тяжкими хворобами людини як рак, автоімунні захворювання, хронічні запалення, порушення метаболізму, діабет та нейродегенеративні хвороби [118].

Можливість цілеспрямованого регулювання активності чинника NF-κB є перспективною для контролю та терапії великої кількості патологічних процесів у клітині. Дослідження показали, що наночастинки діоксиду церію інгібують фосфорилування IκBα, у такий спосіб зменшуючи транслокацію субодиниці p65, яка спричинена активацією NF-κB [250].

Наночастинки з низьким співвідношенням окиснювального стану  $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$  демонструють як міметичну активність каталази, так і фосфатази [83]. Здатність проявляти активність кислій фосфатази виявили наночастинки Pt [81], а активність лужної фосфатази імітують наночастинки фулерену [341]. Зворотні реакції фосфорилування та дефосфорилування – основа енергетичного і сигнального метаболізму в клітинах. Така молекулярна активність відкриває нову перспективу оцінювання і прогнозування біологічних властивостей наночастинок [58; 111].

З метою практичного застосування наночастинок у біології потребує пильної уваги аналіз часу їх перебування в організмі та необхідність цільового доставлення до органів і тканин, що пришвидшить їх впровадження [123]. У подальших дослідженнях необхідно застосовувати безпечний, відповідальний та комплексний підхід з науковими дослідженнями та оцінювання можливих медико-санітарних і екологічних ризиків, що є основою політики Європейського Союзу в галузі нанотехнологій [260].

## **2.2. Редокс-процеси у клітинах та значення у їх регуляції Селену**

Окисно-відновні реакції мають важливе значення для життя як основні перетворювачі клітинної сигналізації та метаболізму. Зв'язки окисно-відновних процесів у клітині в різних просторових і часових масштабах залишаються недостатньо вивченими [134]. Оксидативні біомаркери стресу надзвичайно інформативні у токсикологічних дослідженнях [139]. Нині існує багато інформації про антиоксидантні та інші унікальні властивості Селену [46]. Зокрема, Селен характеризується антиоксидантною [45; 150],

антиапоптичною, антигенотоксичною [17], протизапальною [363], протипухлинною [357] та імуномодулювальною [150] активністю. Селен необхідний для підтримання гомеостазу всього організму. Різні захворювання можуть бути спричинені дефіцитом Se, зокрема білом'язова хвороба [374], онкозахворювання [173], діабет [276], некроз печінки [180] і міокарда [194], захворювання імунної системи [160], ембріональні патології [383] та навіть Covid [172]. Встановлено участь Селену в утворенні деяких гормонів [291], метаболізмі нуклеїнових кислот [180].

Клітинні окисно-відновні системи містять широкий спектр компонентів, які здійснюють кооперативний сигнальний зв'язок, що взаємо перетинається [376], маючи певну ієрархію з різними особливостями і кінетикою. У механізмах регуляції редокс-процесів у клітинах важливе значення мають наночастинки металів і неметалів – продукти сучасних нанотехнологій [287; 389].

Нанотехнологія є міждисциплінарною наукою, що базується на нових концепціях і фундаментальних дослідженнях і охоплює синтез, характеристику і застосування наноматеріалів. Це поширена галузь, яка за останні десять років набула значного застосування [140; 216; 358]. Наноматеріали – це наноб'єкти від 1 до 100 нм, принаймні в одному вимірі, які мають специфічні властивості з погляду зору розміру, форми, пористості тощо [216].

Одним із важливих елементів регуляції редокс-процесів у клітині є металоїд Селен (Se). Селен у сполуках має різні ступені окиснення (-2, +2, +4 та +6), що дає змогу йому виявляти специфічні біологічні властивості в системах з широкими інтеграційними функціями. Селен за сучасними уявленнями, з урахуванням досягнень “оміксних” технологій [222] є компонентом окисно-відновного інтерфейсу, через який організм взаємодіє з сигналами навколишнього середовища (експозомом) і відповідно до них реагує, підтримуючи гомеостаз на рівні епігеному, геному, метаболізму та експозому [105]. Селен присутній у двох формах в еукаріотичних білках у складі рідкісних амінокислот селеноцистеїну (SeCys) і селенометіоніну (SeMet). Термін селенопротеїни використовують винятково для білків, що містять залишки SeCys, оскільки це основна біологічно активна форма Селену в білках. Кількість селенопротеїнів (селенопротеом) може різнитися в окремих видів живих організмів [200].

Глутатіонпероксидази і тіоредоксинредуктази є найбільш вивченими селенопротеїнами [235]. Вони є незамінними компонентами клітинної глутатіонової та тіоредоксинової систем і, отже, важливими регуляторами внутрішньоклітинного окисно-відновного середовища [40].

Фундаментальним методом підтримання клітинного окисно-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE (Kelch-like ECH-associated-protein 1/NF-E2-related-factor-2)/antioxidant response elements), яка підтримує клітинний гомеостаз у стресових, запальних, канцерогенних і проапоптичних умовах [164; 169; 320; 333]. Останні дослідження доводять важливість активності Nrf2 у формуванні клітинного метаболізму та мітохондріальної функції [152; 165].

Важливим елементом сигнальної системи Keap1/Nrf2/ARE, «сенсорним» білком, який збирає специфічну метаболічну інформацію та перетворює її у відповідну адаптивну відповідь, є Keap1. Його реактивні залишки цистеїну є електрофільним сенсором, налаштованим для реакції на реактивні частки, що походять з різних ендогенних і ксенобіотичних молекул [169; 320]. У результаті змін внутрішньоклітинного окисно-відновного балансу спостерігається нековалентна або ковалентна модифікація Keap1, який інактивується модифікацією залишків цистеїну і втрачає здатність взаємодіяти з Nrf2. Відбувається накопичення в цитоплазмі ядерного чинника транскрипції Nrf2, який потім транслокується в ядро клітини та ініціює транскрипцію антиоксидантних і цитопротекторних генів у локусах елемента антиоксидантної відповіді (ARE) [49]. Білки Nrf2, Keap1 пов'язані між собою і діють як складові частини єдиної редокс-чутливої сигнальної системи [169; 320]. Активність Nrf2 піддається регуляції на різних рівнях, зокрема стабільність білка, транскрипція і посттранскрипція [323].

Нещодавно з'явилися повідомлення, що біогенні наночастинки Селену, отримані методами “зеленої” хімії за участю бактерій, впливають на редокс-чутливий чинник транскрипції Nrf2 (Keap1/Nrf2/ARE сигналізація), який активує транскрипцію та синтез низки антиоксидантних і детоксуючих ензимів [254; 301; 360; 361]. Важливим є розгляд регуляторних механізмів редокс-процесів, структури репресорного білка Keap1, чинника

транскрипції Nrf2, взаємодії наночастинок біогенного Селену з клітиною за участю сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE, як редокс-чутливої сигнальної системи клітин.

### **2.3. Сигнальний шлях Keap1/Nrf2/ARE**

Інтеграція адаптивних реакцій на різні стресові чинники має фундаментальне значення у захисті клітин від пошкоджень. Ці високо координовані стратегії створені для протидії внутрішньому порушенню, відновлення клітинного гомеостазу та підтримання виживання клітини. Сигнальний шлях Nrf2/Keap1/ARE є центральним вузлом перехрестя багатьох шляхів, що беруть участь у клітинному захисті та адаптації [166].

Контролюючи трансактивацію понад 500 цитопротекторних генів, чинник транскрипції Nrf2 бере участь у фізіопатології низки захворювань людини, зокрема раку. Загалом накопичені дані вказують на те, що Nrf2 може діяти амбівалентно та опосередковувати пухлинні супресивні або проонкогенні функції, залежно від конкретного біологічного контексту його активації. Отже, розуміння механізмів, що керують функціями Nrf2 і найбільш підходящого контексту його активації, є необхідною умовою для розроблення ефективних терапевтичних стратегій, заснованих на модуляції Nrf2 [239].

Активність Nrf2 точно контролюється і регулюється в клітинах ссавців. За нормальних фізіологічних умов функціонування Nrf2 підтримується на низькому рівні, оскільки в протеасомній системі убіквітину відбувається безперервна деградація Nrf2. Існує безліч систем убіквітинлігази, які відповідають за деградацію Nrf2 в протеасомній системі. Однією з таких систем складних лігаз є система убіквітинлігази Cullin 3 (Cul3) RING-box 1 (RBX1) E3. Keap1 діє як субстрат для убіквітинування білка Nrf2 [74] і знаходиться в цитоплазмі [281].

Конститутивна активація Nrf2 допускає лише незначну експресію його цільових генів відповіді на стрес як частина функції стаціонарного стану. Однак в умовах окисного стресу або за наявності електрофільних ксенобіотиків комплекс Keap1/Nrf2 дисоціює, Nrf2 транслокується в ядро, де активує індукційно високу експресію генів-мішеней. Отже, Keap1 функціонує як критичний датчик клітинного стресу. Його висока окисно-відновна



чутливість визначається кількістю залишків цистеїну, які розподілені на всьому білку Keap1 і є сенсорними мішенями окиснення або ковалентної модифікації електрофілами або АФО.

У стаціонарних умовах гомодимер Keap1 зв'язується з однією молекулою Nrf2 через свої домени DLG і ETGE, і Nrf2 має короткий період напіврозпаду – приблизно 10–30 хв; отже, Keap1 забезпечує високий протеоліз Nrf2 і підтримує надзвичайно низькі базальні рівні Nrf2 [233]. У відповідь на оксидативний стрес Keap1 окиснюється в реактивних залишках цистеїну, що призводить до інактивації Keap1, стабілізації Nrf2 і транслокації в ядро. Регіони DGR в Keap1 використовують для розпізнавання двох первинних послідовностей мотивів ETGE і DLG в домені Neh2 білка Nrf2 [236]. Взаємодії між Nrf2 і Keap1 здійснюються у наступний спосіб: молекули Keap1 можуть димеризуватися одна з одною, використовуючи домен BTV для взаємодії з Cullin-3, водночас два білка Keap1 зв'язуються з одним білком Nrf2 у співвідношенні 2:1 [324], а мотиви ETGE і DLG, що перекриваються в Nrf2, зв'язуються з двома білками Keap1 з різною афінністю: один Keap1 сильно зв'язується з ETGE ( $K_a = 20 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ), мотивом Nrf2, а інший Keap1 взаємодіє з мотивом DLG зі слабкою спорідненістю ( $K_a = 0,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) [325]. Ґрунтуючись на цих даних, було сформульовано гіпотезу «петлі і засувки» для пояснення механізму регуляції Nrf2 за допомогою Keap1, в якому ETGE («петля») регулює взаємодію з високою спорідненістю між мотивом ETGE Nrf2 і Keap1. Однак на цю взаємодію не впливають індуктори оксидативного стресу, а «засувка» бере участь у зміщенні мотиву DLG Nrf2 з Keap1 у відповідь на вплив індукторів Nrf2 [30]. Відповідно до цієї моделі мотив DLG («засувка»), циклічно перемикається між закритою (взаємодія двох сайтів) і відкритою (лише ETGE) конформаціями [220]. У закритій конформації з Keap1 Nrf2 убиквітується і розкладається протеасомою (рис. 2.4) [324]. Keap1 працює як димерний окисно-відновний субстрат для убиквітинлігази E3 на основі куліну, який пригнічує транскрипційну активність Nrf2 за допомогою убиквітинування і протеасомної деградації. Ця передача сигналів відома як канонічний шлях [307]. У базальних (канонічних) умовах Nrf2 зв'язується з Keap1 і піддається швидкій деградації під дією убиквітин-протеасомної системи. Невеликий білок убиквітин має

життєво важливу функцію майже у всіх аспектах клітинного життя. Серед різноманітних сигнальних випадків, пов'язаних з убіквітуванням, найбільш усталеним є цілеспрямована деградація субстратів через протеасому.

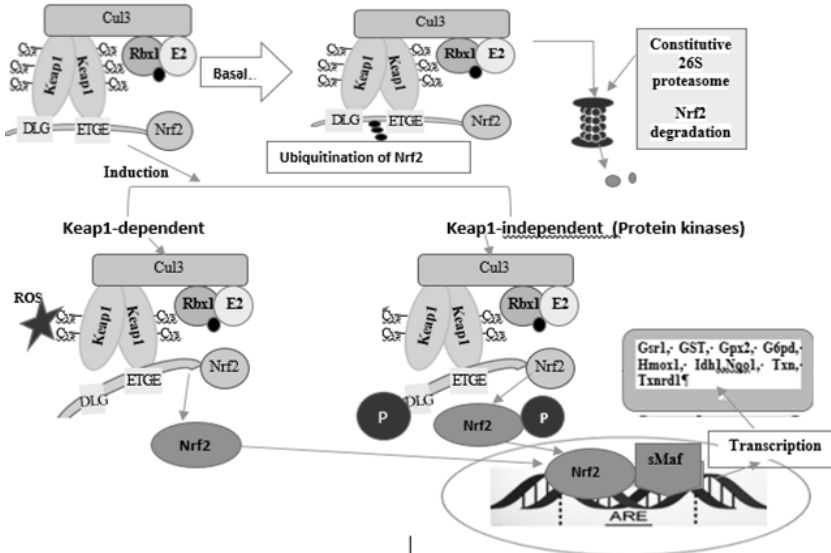


Рис. 2.4. Кеар1-залежний і Кеар1-незалежний сигнальні шляхи активації Nrf2 [43]

Клітини потребують механізмів, що розщеплюють білки, непотрібні наразі або/та ті, що втратили функціональність. Еукаріотичні клітини мають два основні способи контролю для підтримання гомеостазу протеома – систему аутофагії-лізосоми і убіквітин-протеасоми (UPS). UPS відповідають за деградацію короткоживучих регуляторних білків або неправильно згорнутих білків за участю протеасоми 26S. Протеасома, найскладніша з відомих протеаз, розщеплює білки, які були кон'юговані з убіквітином.

У гомеостатичних умовах Nrf2 локалізована в цитоплазмі завдяки своїй асоціації з комплексом Кеар1–Сул3–Рбу1, що призводить до безперервного убіквітування Nrf2 і його протеасомної деградації. У відповідь на оксидативний стрес Nrf2 дисоціює від Кеар1 (переважно в результаті окиснення залишків

цистеїну в Keap1), транслокується в ядро і гетеродимеризується з одним із невеликих білків MAF. Цей комплекс активує ARE-залежну експресію генів низки антиоксидантних і цитопротекторних білків і надає стійкості клітинам до окисного стресу.

Адаптивність протеасоми, яка є унікальною протеазою, дає змогу клітинам контролювати шлях убіквітин-протеасоми в глобальному масштабі [36; 107; 108; 269]. Протеасома 26S є основною протеазою в клітині, відповідальною за деградацію білків як в цитоплазмі, так і в ядрі. Приєднання убіквітину спрямовує відпрацьовані білки на протеасому. Модифікація убіквітином, ковалентно приєднана до білкових бічних ланцюгів лізину за участю безлічі убіквітинлігас і кон'югуючих ферментів, надходить в протеасому, де субстрат руйнується [36]. Деградація більшості (80–90 %) внутрішньоклітинних білків здійснюється 26S протеасомою. Після індукції залишки цистеїну в Keap1 модифікуються, активність убіквітинлігаси E3 пригнічується, і рівні Nrf2 збільшуються. Активованій Nrf2 надходить в ядро і димеризується з MAF, щоб сприяти транскрипції ARE-залежних генів [239]. АФО або електрофільна реакція з певними залишками цистеїну зумовлює конформаційні зміни в Keap1 і запобігає протеасомній деградації Nrf2. Збагачений цистеїном білок Keap1 регулює активну деградацію Nrf2 в базальних умовах, діючи як адаптер до cullin3 (Cul3) ringbox1 (Rbx1), який містить E3 убіквітинлігасний комплекс.

Точний механізм, за допомогою якого модифікації цистеїну в Keap1 призводять до активації Nrf2, невідомий, однак існують дві основні незалежні моделі. Перша модель – «петля і засувка», в якій модифікації Keap1 в тілових залишках, що знаходяться в IVR Keap1, можуть порушувати взаємодію з Nrf2 з провокуванням зсуву залишків лізину в Nrf2, які більше не можуть бути полібіквітиновані. Друга модель, в якій модифікація тіолу зумовлює дисоціацію Cul3 з Keap1.

В обох моделях Keap1, модифікований індуктором і пов'язаний з Nrf2, інактивується, і, отже, знову синтезовані білки Nrf2 обходять Keap1 і транслокуються в ядро, зв'язуються з ARE і управляють експресією генів-мішеней Nrf2, таких як NAD(P)H хінон-оксидоредуктаза 1 (NQO1), гем-оксигенази 1 (HMOX1), глутамат-цистеїнлігаса (GCL) та глутатіон-S-трансферази (GST).

Окрім модифікацій тіолів Keap1, що призводять до індукції гена-мішені Nrf2, такі білки як p21 і p62, можуть зв'язуватися з Nrf2 або Keap1, порушуючи взаємодію між Nrf2 і Keap1 [155].

У цитоплазмі білки Keap1 формують гомодимер, що зв'язує одну молекулу Nrf2, тому спочатку домінувала проста модель дисоціації його комплексу внаслідок окисної модифікації та конформаційних змін репресорного білка, в результаті чого вивільнений транскрипційний чинник Nrf2 переміщується в ядро. Надалі було показано, що після впливу електрофілів значна кількість комплексів Nrf2 – Keap1 залишається у зв'язаному вигляді [91]. Детальні дослідження будови поліпептидних ланцюгів Nrf2 і Keap1 виявили в складі Neh2, Keap1–зв'язуючого домену транскрипційного чиннику Nrf2, двох послідовностей з високою ( $K_a = 20 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ; «ETGE») і низькою ( $K_a = 0,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ; «DLG») афінністю до інгібітору, що дало змогу запропонувати модель «петлі і гака». У клітині відбувається конститутивний синтез нових молекул Nrf2, які зв'язуються з Keap1 і піддаються постійному убіквітинуванню і протеасомній деградації, тому в умовах гомеостазу концентрація вільного Nrf2 невелика [380]. Внаслідок модифікації цистеїнових залишків Keap1 білок змінює конформацію і втрачає спорідненість до низькоафінного мотиву DLG, «гачок» зіскакує, а Nrf2 повисає на «петлі» – високоафінному мотиві ETGE. Це призводить до порушення убіквітинування Nrf2 і, отже, його протеасомної деградації (однак не асоціації з Keap1), пул молекул інгібітору насичується, і вміст вільного Nrf2 збільшується, час його існування в клітинах зростає до 100–200 хв [29].

Залишки цистеїну в Keap1 визначають активні форми Оксигену (АФО) або електрофіли в клітинному середовищі, зумовлюючи конформаційні зміни в Keap1. Модифікований Keap1 може порушити його взаємодію з мотивом DLG з низькою спорідненістю, тимчасом як мотив ETGE з високою спорідненістю залишається пов'язаним з Keap1. Оскільки мотив DLG не зв'язується з Keap1, він впливає на орієнтацію залишків лізину в Neh2 домені Nrf2, запобігаючи його убіквітинуванню і деградації. Після відновлення окисно-відновного гомеостазу Keap1 переміщується в ядро і контролює ядерний експорт Nrf2 для подальшої протеасомної деградації в цитоплазмі. Щоб уникнути деградації та активувати транскрипцію ARE-керованих генів, конформація комплексу Nrf2–

Keap1 має змінитися. Це відбувається, коли Keap1 ковалентно модифікується в своїх чутливих залишках цистеїну, що впливає на його конформацію і стабілізує Nrf2 в нерозкладному комплексі (*канонічний шлях*) [30].

Крім того контролювана канонічна активація Nrf2 необхідна для хіміопрофілактики раку, тимчасом неконтрольована неканонічна активація Nrf2 забезпечує розвиток раку і хіміорезистентності, діючи як двосічний меч, здатний опосередковувати пухлинні супресивні або проонкогенні функції, залежно від конкретного біологічного контексту його активації [240]. Отже, розуміння механізмів, що регулюють сигнальний шлях Keap1/Nrf2/ARE і найбільш придатних індукторів його активації – необхідна умова для розроблення ефективних терапевтичних стратегій і методів лікування або профілактики захворювань [80; 240; 322].

#### **2.4. Наноселен як індуктор сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE**

Багато активаторів Nrf2 являють собою електрофільні молекули, які ковалентно модифікують цистеїнові залишки білка Keap1 [263]. Дослідження показують, що агенти, які індукують Nrf2, такі як тритерпеноїди, диетилmaleат, диметилфумарат, сулфорафан, куркумін, трет-бутилгідрокінон, окиснюючись до електрофільного метаболіту трет-бутилбензохінону, модифікують залишок Cys151 для індукції Nrf2. Тимчасом 2–ціано-3,12–диоксоолеано-1,9d-ієн-28–імідазолід, хлорид кадмію та арсен активують Nrf2 незалежно від Cys151 [263]. Диференціальна реактивність цистеїну в Keap1, «код цистеїну», однак, не пояснює, як це призводить до різної токсин-залежної активації генів транскрипційним чинником Nrf2 [217]. Індукторами Keap1/Nrf2 можуть бути наночастинки, що доведено дослідженнями [301; 360].

Для синтезу наночастинок традиційними фізичними і хімічними методами необхідно застосовувати відновлювальні агенти, які мають високий реакційний і токсичний вплив за використання людьми, або є екологічно небезпечними і досить дорогими [281]. Масштабний синтез також стикається з багатьма проблемами, зокрема низької стабільності та меншої монодисперсності [166].

Природна «біолабораторія», що складається з рослин, водоростей, грибів, дріжджів, бактерій і різних біомолекул, бере активну участь в утворенні наночастинок різної форми, розміру і властивостей, і є рушійною силою для розроблення більш безпечних і екологічних методів синтезу наночастинок цими біонанофабриками [283; 330].

Введення понять зеленої хімії і нанотехнологій є революційною подією в науці, яка вплинула на проведення досліджень з екологічної безпеки та зменшення розмірів об'єктів. Об'єднання цих двох галузей проклало шлях до нової зеленої і нанорозмірно орієнтованої науки під назвою “зелені” нанотехнології, або біонанотехнології [330]. “Зелений” синтез за допомогою бактерій є особливо важливим для отримання наночастинок через їх різноманітність, високу пристосованість до екстремальних умов [304], низьку енерговитратність та регульованість процесів біогенного синтезу [79].

Завдяки “озелененню” процесів синтезу наночастинок з використанням біологічних систем і їх компонентів відбулося зменшення навантаження на навколишнє середовище і підвищення економічної ефективності, відкриті додаткові можливості створення наночастинок із заданим складом і властивостями. Кожна наносистема є унікальною і специфічною за своєю рецептурою, сумісністю з активними молекулами, вибором допоміжних речовин і кінетикою, а також біологічною ефективністю [61; 331].

Синтезовані методами біонанотехнології SeNPs мають безліч застосувань у галузі медичних і фармацевтичних досліджень. Наночастинки Селену мають онкосупресорну, антиоксидантну та антимікробну активність, застосовуються в біології, медицині, сільському господарстві [19; 171; 331].

У дослідженнях Song et al. [301], синтезовано наночастинки біогенного наноселену (BNSe) за участю бактерій *Enterobacter cloacae* Z0206, за допомогою яких селеніт натрію був трансформований у сферичні наночастинки Se, зі стабілізуючою білковою оболонкою та розміром часток від 80 до 250 нм (у середньому  $139,43 \pm 7,44$  нм). Частилки BNSe синтезувалися внутрішньоклітинно і секретувалися із клітини. У досліді порівнювали ефективність біогенних наночастинок Селену з

органічною формою Селену (селенометіонін і наночастинки селену), отриманими фізико-хімічними методами (розмір NPSe – від 40 до 600 нм, середнє значення  $120 \pm 10$  нм).

Класичне визначення наночастинок передбачає їх розмір від 1 до 100 нм, однак завдяки унікальним фізико-хімічним (розмір, форма, хімічний склад, стабільність) і біологічним властивостям, синтезованих методами біонанотехнології, вони можуть належати до наноструктур. Монодисперсність і стабільність біогенних SeNPs у межах цього діапазону обумовлена матеріалом, що складається з біомолекул, що продукуються бактеріальними клітинами, які беруть участь у контролі діаметра наночастинок [351].

На моделі клітин мишей з індукованим дикватом (біпіридилним гербіцидом, що сприяє утворенню супероксидного радикалу) оксидативним стресом у клітинах кишечника показано, що частинки BNSe захищають кишковий бар'єр мишей і зберігають редокс-гомеостаз клітин кишечника ефективніше порівняно з селенометіоніном і наноселеном, синтезованим хімічними методами [301].

Дослідження *in vitro* з епітеліальними клітинами тонкої кишки свині (IPEC-J2) показали наступні ефекти: частинки BNSe захищають епітеліальний бар'єр від окисного стресу, знижують апоптоз клітин, покращують редокс-гомеостаз, активують транскрипційний чинник Nrf2, підсилюють експресію генів цитопротекторних і антиоксидантних сполук, таких як TXNRD-1, НАДФН дегідрогеназа (NQO)-1, гемоксигеназа-1 (HO-1) і тіоредоксин.

Шлунково-кишковий тракт є основним джерелом АФО, тому стабільність кишкового бар'єру має вирішальне значення для підтримання його стійкого стану. Важлива функція активації сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE в підтриманні кишкового бар'єру полягає в наступному: знижується пошкодження слизової оболонки кишечника; зменшується запалення кишечника, пригнічується запальний шлях; нормалізується кишкова проникність впливом на білки епітелію кишечника і апоптоз клітин; регулюються процеси диференціювання та функції Т-клітин; перехресна взаємодія між шляхом Keap1–Nrf2 і аутофагією контролює оксидативний стрес у клітинах кишечника [354].

Нині виявлено альтернативні механізми регуляції

функціонування Nrf2, зокрема фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами (PKC, PI3K/Akt, GSK-3 $\beta$ , JNK), взаємодія з іншими білковими партнерами (p21, кавеолін-1) і епігенетичними чинниками (мікро-РНК-144, -28 і -200а і метилування промотору). Встановлено, що нековалентна активація Nrf2 забезпечує більший клітинний захист, ніж ковалентна активація [195], що стимулює дослідження в цьому напрямі.

Ці та інші процеси є потенційно важливими детермінантами активності Nrf2 і, отже, можуть сприяти підтриманню клітинного гомеостазу. Необхідною умовою функціонування багатьох транскрипційних чинників є їх просторово-часова регуляція. Встановлено, що Nrf2 «вмикається» у відповідь на стимул і «вимикається», коли стимул видаляється. Саме тому цей шлях чітко регулюється низкою механізмів, відповідальних за запобігання надмірної активації Nrf2, що може обумовити різні патології.

Отже, транскрипційний фактор Nrf2 забезпечує клітинний захист, підтримуючи клітинний окисно-відновний гомеостаз і протеостаз. Базальні рівні Nrf2 зазвичай низькі через Keap1–опосередковане убіквітинування і подальшу протеасомну деградацію. Keap1 містить сенсорні цистеїни (Cys151, Cys273, Cys288, Cys226, Cys434 і Cys613), які модифікуються електрофілами або окиснювачами, що призводить до дисоціації комплексу Keap1–Nrf2, пригнічення деградації Nrf2, транслокації його в ядро, гетеродимеризації з MAF, активації ARE-залежної експресії генів антиоксидантних і цитопротекторних білків. Нині виявлено альтернативні механізми регуляції Nrf2, зокрема фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами (PKC, PI3K/Akt, GSK-3 $\beta$ , JNK), взаємодію з іншими білковими партнерами (p21, кавеолін-1) і епігенетичні чинники (мікро-РНК-144, -28 і -200а і метилування промотору).

Застосування нових активаторів Nrf2, зокрема, біогенного наноселену, синтезованого за участю різних видів бактерій, сприяє активації сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE, активації комплексу антиоксидантних і цитопротекторних ферментів. Індуктори Nrf2 є електрофільними молекулами, які мають небажані побічні ефекти через їх реактивну природу. Оскільки нековалентна активація Nrf2 забезпечує більший клітинний захист, ніж ковалентна, що



зумовлює перспективність пошуків і створення композитних наноматеріалів на основі природних неелектрофільних активаторів Nrf2 за участю наночасток, передусім біогенних, з можливою їх функціоналізацією для таргетування, транспортування і ефективного застосування. Останніми роками кількість кишкових захворювань значно зросла через зміни у харчуванні та дії інших чинників навколишнього середовища. Вкрай важливо зрозуміти механізми функціонування кишкових бар'єрів для розвитку і лікування цих захворювань. Сигнальний шлях Keap1/Nrf2 має важливе значення для підтримання цілісності кишкового бар'єра, зменшує пошкодження і запалення кишечника, бере участь у регуляції шляху запалення в різних моделях захворювань, пригнічує утворення АФО, підвищує виживання клітин і активізує транскрипцію генів-мішеней антиоксидантів. Очевидно, такого типу Nrf2-залежна активація генів, що захищають клітини, підсилює захист проти різних оксидативних стресів. Оскільки низка хвороб мають оксидативний стресовий компонент, то значення шляху передачі сигналів Nrf2 зумовило проведення значних клінічних та лабораторних досліджень. Детальне знання заснованих на тіол-залежних і незалежних механізмах редокс-сигналізації в фізіологічних і патологічних умовах сприятиме глибшому розумінню окисно-відновного компонента в здоров'ї та захворюванні людини і тварин. Передача сигналів Keap1 / Nrf2 / ARE розкриває терапевтичні мішені для безлічі редокс-опосередкованих захворювань.

На основі результатів досліджень і даних літератури підтверджується припущення щодо впливу наноселену на активацію шляху Nrf2–ARE та фізіологічну функцію кишкових епітеліальних клітин. Оброблення клітин ІРЕС-Ј2 частинками біогенного наноселену значно збільшило вміст фосфорильованого Nrf2 без помітного впливу на рівні білка Keap1 [360], що свідчить про активацію Nrf2 Keap1–незалежним шляхом, без участі його сенсорних цистеїнів. Показано, що частинки BNSe активували шлях Nrf2–ARE через p38, ERK 1/2 і АКТ-опосередковане фосфорилування Nrf2 з подальшим поліпшенням антиоксидантної функції кишкових епітеліальних клітин. Водночас відбувається ініціація транскрипції антиоксидантних і ферментів детоксикації, таких як NAD(P)H: хінон-оксидоредуктаза 1 (NQO1), гем-

оксигенази-1 (HO-1), цитопротекторний фермент, який регулює антиоксидантні і запальні реакції, тіоредоксинредуктаза (TXNRD) та тіоредоксин. Підсумовуючи аналітичні дані світових науковців [301; 360], було запропоновано [43] адаптований механізм активації шляху Nrf2/ARE наночастинками біогенного наноселену (BNSe), синтезованими за участю бактерій (рис. 2.5).

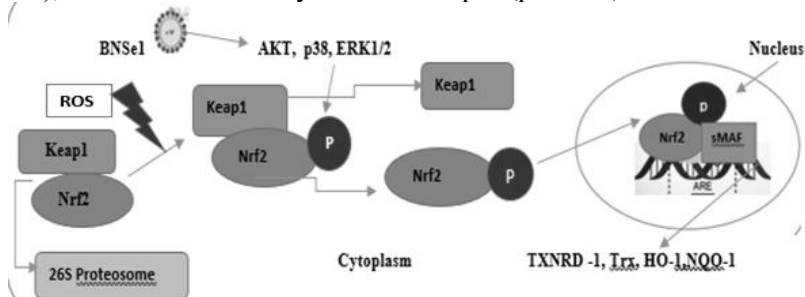


Рис. 2.5. Механізми активації шляху Nrf2/ARE наночастинками біогенного наноселену (BNSe), синтезованими за участю бактерій у кишкових епітеліальних клітинах (ІРЕС-І2) [Адаптовано з 301; 360]

Важливим чинником активації Nrf2 біогенним наноселеном є транскрипція і синтез компонентів тіоредоксинової системи, що складається з тіоредоксину (Trx) і тіоредоксинредуктази (TXNRD). TXNRD – селенофермент і NADPH-залежний флавопротеїн, який відновлює окиснений Trx до його дитіольної форми для підтримання окисно-відновного гомеостазу клітин, і захищає ДНК від ушкоджень, пов'язаних з окисним стресом [178].

Існують різні Keap1-незалежні шляхи активації Nrf2, зокрема активація сигнальних каскадів протеїнкіназ молекулами, які модифікують клітинний окисно-відновний статус [289].

Показано, що фосфорилювання за певним амінокислотним залишком Nrf2 (Ser-40) може збільшити його стабільність і трансактивуючу активність [233]. Типові сигнальні шляхи протеїнкіназ містять фосфатидилінозитол 3-кіназу (PI3K), мітогенактивовану мітогенкіназу (MAPK), протеїнкіназу С (PKC) і глікоген синтетазкіназу-3 GSK3. Фосфорилювання Nrf2 за допомогою PI3K, PKC, c-Jun N-терміналкиназою (JNK) і позаклітинною сигналрегульованою кіназою (ERK) забезпечує

позитивну регуляцію, тимчасом p38 MAPK (MAP кіназа мітогенактивована протеїнкіназа) регулює шлях Nrf2 як позитивно, так і негативно [324].

В умовах гомеостазу Nrf2 утворює комплекс з Keap1 у цитозолі, що сприяє поліубіквітинуванню і деградації Nrf2 26S протеасомою. За оксидативного стресу оброблення клітин частинками BNSe1 активує Nrf2, використовуючи Keap1–незалежний шлях активації, через p38, ERK1/2 і АКТ-опосередковане фосфорилування Nrf2. Nrf2 відщеплюється від репресора Keap1, транслокується в ядро клітини, зв'язується з ARE і sMAF, що зумовлює експресію антиоксидантів і цитопротекторних генів: тіоредоксин редуктази-1 (TXNRD-1), NADPH-квінон оксидоредуктази-1 (NQO), гемоксигенази-1 (HO -1) і тіоредоксину (Trx).

Дослідженнями останніх двох десятиліть переконливо доведено, що більшість стресів птиці, незалежно від джерела стресу, пов'язані з дисбалансом утворення та детоксикації вільних радикалів. На молекулярному рівні оксидативний стрес є основною ланкою негативних наслідків кормових, середовищних, технологічних і біологічних / внутрішніх стресів у сучасному тваринництві та птахівництві [316]. Доведено, що адаптація до стресів здійснюється на рівні генів, які отримали назву вітагени. До них належать білки теплового шоку (HSP); SOD; система тіоредоксинів та система глутатіону, сіртуїни [3].

Нині концепцію вітагенів успішно перенесено з медицини у ветеринарію і доведено її практичну ефективність [316; 318]. Активація вітагенів розглядається як один з найважливіших підходів до підвищення стійкості сільськогосподарських тварин та птиці до стресових ситуацій. Це стосується, зокрема, вирощування бройлерів, де стреси починаються від виведення молоддюку і його посадки в приміщення для вирощування та тривають до передзайного стресу [3]. Щодо птиці у період яйценосності, то стресові ситуації пов'язані, передусім, з високою продуктивністю, коли печінка працює на межі своїх можливостей, щоб забезпечити ефективний синтез складників яйця [9].

Системи наночастинок розглядають як альтернативу пероральному надходженню ліків і препаратів [39; 198] та кормових добавок. Ефективність застосування біологічно активних

добавок (омега-3 та омега-6 жирних кислот, про- та пребіотиків, вітамінів та мінералів) у препаратах наночастинок розглядали у численних публікаціях [151; 211; 266], деякі наразі клінічно використовуються [210; 301], інші лише починають розвивати [342]. Стимулом для використання нанотехнологій у живленні та харчуванні є такі переваги як смак і запах, введення і розчинність, захист від окиснення та ферментативної деградації, подовження часу перебування та ефективно проходження через шлунково-кишковий тракт, що підвищує біодоступність застосованих речовин [193]. Більшість пероральних добавок мають недоліки (недостатній час перебування, невисока проникність і розчинність, нестабільність під час виробництва (температура, присутність кисню, світло) чи в середовищі шлунково-кишкового тракту (рН, ферменти, наявність інших поживних речовин), які знижують активність та потенційну користь від їх використання. Отже, розроблення нових препаратів та методів їх створення є доречними для досягнення фізіологічного та терапевтичного ефекту [230].

Використання наночастинок має низку переваг [211; 373], до яких відносять різні шляхи їх адміністрування, нижча токсичність порівняно із іншими сполуками, вища стабільність таких нутрієнтів в умовах шлунково-кишкового тракту та підвищену здатність до транспортування. NPs є біодоступнішими, легше проникають через клітинні стінки, порівняно із мікропрепаратами, є контрольованими та триваліше використовуються цільовими сайтами. Їх фізико-хімічними властивостями можна маніпулювати для досягнення оптимальної спрямованості препаратів та для надання здатності протистояти згубній дії рН, обробленню та впливу навколишнього середовища.

Наночастинки Селену (SeNPs) є біодоступнішими та менш токсичними порівняно з його неорганічними та органічними формами [266], а неорганічні сполуки Se токсичніші за органічні. Біологічні властивості SeNPs залежать від їх розміру: дрібніші є активнішими та *in vitro* поглинаються швидше (частинки розміром 0,1 мкм в 2,5 та 6 разів більше порівняно з частинками розміром 1 та 10 мкм відповідно). Важливими є розмір, морфологія частинок та матеріал для інкапсуляції [24]. Використання кормових добавок, інкапсульованих у NPs, є потенційно значимим для поліпшення їх біодоступності з можливістю зміни властивостей, зокрема стійкості

до несприятливих значень рН, перетравлення та ферментативного розщеплення [373].

Перевагою нано-селену (Nano-Se) є можливість використання елемента в нульовому ступені окиснення ( $\text{Se}^0$ ), що проявляє низьку токсичність та високу біодоступність порівняно із  $\text{Se}^{+4}$  та  $\text{Se}^{+6}$  [50].  $\text{Se}^0$  є дуже нестабільним і легко перетворюється у неактивну форму, стабілізації його можна досягти інкапсуляцією у нано-транспортні засоби, наприклад, хітозан [381].

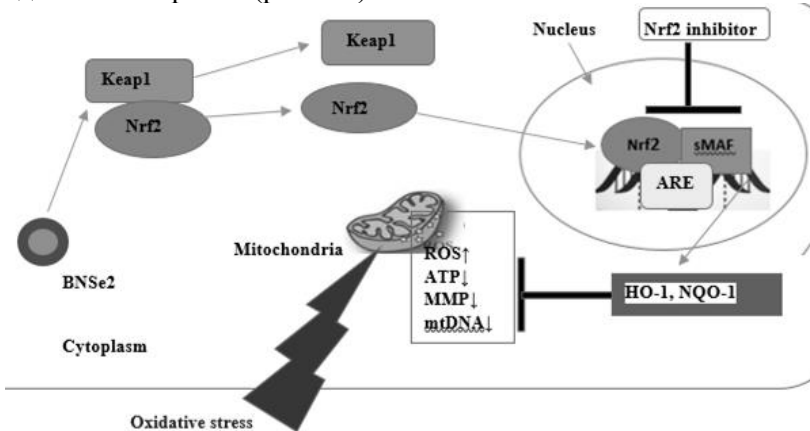
Nano-Se широко використовують з біомедичною метою завдяки здатності знижувати оксидативний стрес [223; 303], антиоксидантним властивостям порожнистих сферичних SeNPs [256], що знижують ризик токсичності елемента, хіміопрофілактичній здатності [373]. Описано використання Nano-Se як протиракового препарату [304; 301], носія протиракового доставлення ліків [94], антимікробного [49; 201; 272], протигрибкового [177], імуностимулювального засобу [266], препарату для лікування металевого отруєння [25; 26] та засобу корекції фізіологічних функцій [39; 375]. Описано антипротозойний ефект Nano-Se, а біогенні SeNPs у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* проявляли терапевтичний ефект під час лікування локалізованих уражень, зумовлених *Leishmania major* та *Leishmania babyum* [282].

Основні ефекти SeNPs розглядали в багатьох дослідженнях [151; 210; 274; 334]. До таких ефектів належать антиоксидантна здатність, зменшення ризиків від надлишкового надходження заліза та хрому, участь в імуномодуляції та протимікробному, протипаразитарному захисті. Нано-селен діє як протионкотичний агент, стимулює стресостійкість, позитивно впливає на утворення шлункових ферментів та перетравлення, збільшує вміст Селену у м'ясі, прискорює швидкість росту, росту шерсті та волосся, бере участь у репродукції, поліпшує пам'ять, захищає від жирового переродження печінки.

У дослідженнях Xu et al. [361] встановлено, що біогенні наночастинки Селену, синтезовані за допомогою бактерій *Lactobacillus casei* ATCC 393, мали розміри 50–80 нм, концентрувалися у внутрішньоклітинному просторі, були стабілізовані білково-полісахаридною оболонкою. SeNPs у концентрації менше 25 мкг Се/мл не мали цитотоксичності щодо нормальних епітеліальних клітин людини (NCM460). Показано, що токсичність різних форм Селену спадала в наступному порядку:

селеніт натрію> метіонат селену> SeNPs. Встановлено, що SeNPs після ендоцитозу індукували апоптоз клітин HepG2 за участю каспаз, зменшували оксидативний стрес в епітеліальних клітинах кишечника, індукований прооксидантами (дикватом,  $H_2O_2$ ), зменшували концентрацію кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів (малонового діальдегіду), підвищували активність селензалежної глутатіонпероксидази. На моделі окисного пошкодження епітеліальних клітин слизової оболонки товстої кишки людини (NCM 460), індукованого пероксидом гідрогену доведено, що SeNPs, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, знижують рівень АФО, MMP і зберігають проникність клітин [254].

За додавання до раціону птиці наноселену спостерігали активацію білкового обміну в їх організмі, що виражалось зміною вмісту загального протеїну, альбумінів та основних метаболітів. Водночас виявлено вплив наночастинок на процеси пероксидного окиснення ліпідів. Це дає змогу припустити, що BNSe2 підвищували рівні білка Nrf2, HO-1, NQO-1 і нейтралізували пошкодження ультраструктури мітохондрій, зумовлені оксидативним стресом (рис. 2.6).



**Рис. 2.6. Механізм протекторної дії біогенних SeNPs, синтезованих *Lactobacillus casei* ATCC 393 на кишковий епітеліальний бар'єр, що нейтралізує оксидативні пошкодження [Адаптовано із 254; 361]**

Додавання низькомолекулярного інгібітора Nrf2 (ML385), який зв'язується з Neh1, доменом Nrf2 і перешкоджає утворенню білкового комплексу MAF-Nrf2 з регуляторними зв'язуючими послідовностями ДНК, не відбувається транскрипція генів антиоксидантних ферментів і усувається захисна дія біогенного наноселену.

Отже, доведено, що біогенні BNSe2, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, захищають кишкову епітеліальну бар'єрну функцію від наслідків оксидативних ушкоджень, нормалізують функції мітохондрій за участю сигнального шляху Nrf2/ARE.

Інгібітор Nrf2 усуває антиоксидантну дію BNSe2, перешкоджаючи утворенню комплексу sMAF-Nrf2 і зв'язування його з ARE. BNSe2, біогенні наночастинки Селену; ARE, антиоксидантний елемент відповіді; MMP, мітохондріальний мембранний потенціал.

Дуалізм мітохондрій виявляється в тому, що вони є основним джерелом активних форм кисню (АФО) і водночас високочутливою мішенню оксидативного стресу. Пошкодження мітохондрій призводить до біоенергетичної дисфункції і клітинної смерті як некрозом, так і апоптозом. Показано, що активація Nrf2 індуктором сульфорафаном активізує мітохондріальні антиоксиданти і захищає мітохондрії від дисфункції, а також нервові клітини від ушкодження і смерті [120].

Цікаво, що залежно від виду бактерій, які беруть участь у біогенному синтезі наночастинок, розміру часток і стабілізуючої оболонки, активація сигнального шляху проходить по Keap1–незалежному шляху активації Nrf2, що передбачає фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами [360] і Keap1 залежному шляху. Частинок наноселену, отримані хімічними методами, беруть участь в антиоксидантному захисті входженням у структуру селенопротеїнів [301].

Аналізуючи спосіб введення, то пероральне введення NPs – економічно найефективніший метод прийому добавок, однак абсорбція NPs може бути утруднена абсорбційними бар'єрами травного тракту (слиз та слизова оболонка кишечника), основна функція яких полягає у захисті від потенційних патогенних мікроорганізмів чи хімічних речовин та підтриманні різного рівня рН між просвітом і слизовою оболонкою кишечника [198].

## 2.5. Поліфакторна дія наночастинок Селену

НPs можуть проходити через кишковий епітелій двома шляхами: параклітинним (між сусідніми клітинами) чи трансклітинним (через клітини) [198]. У фізіологічних умовах перший шлях обмежений вузьким діапазоном міжклітинних просторів та щільністю сполучень між епітеліальними клітинами (діаметр пор становить 0,3–1 нм) [275]. Трансклітинний транспорт NPs відбувається через трансцитоз, що починається з ендоцитозу в апікальній мембрані клітин. Надалі NPs транспортуються через клітини і вивільняються на базолатеральному полюсі [244].

Епітеліальні клітини кишечника здатні переносити NPs з мінеральними елементами, однак ємність їх обмежена. Ендоцитоз (піноцитоз чи макропіноцитоз) потребує енергії для інтерналізації NPs. Макропіноцитоз залежить від актину, однак не від рецепторів, що призводить до інтерналізації великої кількості рідини з частинками розміром менше 5 мкм [23]. На поглинання NPs впливають електричний заряд, гідрофобність поверхні та розмір [128]. Епітеліальна клітинна мембрана травного тракту складається із ліпідів, тому гідрофобні NPs більш абсорбційно ефективні, ніж гідрофільні частинки. Поглинання наночастинок розміром 100 нм у ШКТ у 15–250 разів вище, ніж у крупніших NPs [218].

Nano-Se має кращу антиоксидантну здатність, ніж інші форми Селену, зокрема селенометіонін (SeMet) за меншої токсичності [373]. Nano-Se спричинив значно вищу активність глутатіонпероксидази (GPx) у печінці поросят-сисунів за концентрації 1,0 мг Se/кг у раціоні, ніж  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  [20].

Оксидативний стрес впливає на фертильність сперматозоїдів перекисним окисненням ліпідів, що може призвести до дисфункції сперматозоїдів [42]. Дефіцит Селену призводить до виникнення аномальних мітохондрій сперматозоїдів. Додавання Nano-Se збільшує концентрацію Селену в тестікулах та активність GPx тестікулів і сперми, захищає цілісність мембрани та ущільнює утворення середньої частини мітохондрій [136].

Встановлено важливість материнського введення Nano-Se для поліпшення розвитку волосяного фолікулу та стимулювання росту плоду [266], що було пов'язано із впливом на антиоксидантний статус шкіри плоду (збільшення антиоксидантного захисту та



зменшення генерації активних форм кисню). У кашемірових кіз SeNPs позитивно впливали на кількість шерсті, підвищували активність GPx, супероксиддисмутази (SOD), вміст Селену у шкірі та сироватці крові та експресію генів, що контролюють стан шкіри [366]. Крім того, спостерігали зниження продукції малонового діальдегіду (MDA) у шкірі та сироватці, що впливало на антиоксидантний статус шкіри плодів та значно збільшувало кількість їх вторинних волосяних фолікулів. Низький рівень АФО, імовірно, активує IGF-1 та IGF-1R, що сприятливо впливає на розвиток волосяних фолікулів плоду. Крім того, надходження SeNPs підвищувало вагу плоду і плаценти [266].

SeNPs відомі своєю антимікробною активністю [66; 259; 308; 324]. Селен – важливий мікроелемент, що регулюється клітинним окисно-відновним гомеостазом [28] і є компонентом селенопротеїнів, які контролюють елімінацію АФО та специфічну ферментну модуляцію [185], дефіцит Селену спричиняє сприйнятливості до вірусних інфекцій. За інфікування мишей вірусом грипу H1N1 смертність у групі з дефіцитом Селену була в 3 рази вища, ніж у мишей, що отримували  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у дозі 0,5 мг Se/кг, а у мишей з низькими концентраціями Селену у сироватці крові відмічали зниження ваги тіла та нижчі рівні імуноглобулінів [366].

Синтезовані SeNPs, поверхнево-модифіковані осельтамівіром (OTV) [184], мали антивірусні властивості та обмеженням лікарської стійкості. OTV-модифіковані SeNPs, імовірно, інгібували вірулентність грипу H1N1 та показали меншу токсичність. OTV-SeNPs перешкоджали проникненню H1N1 у клітини хазяїна, інгібуючи активність глікопротеїдів вірусу грипу – гемаглютиніну та нейрамінідази. Модифіковані NPs були здатні попереджувати зараження H1N1 клітинами нирок собак і блокувати конденсацію хроматину та фрагментацію ДНК, інгібували генерацію АФО та активацію фосфорилування клітинного пухлинного антигену p53 та Akt, що свідчить про ефективний противірусний вплив щодо респіраторних захворювань [184; 366].

SeNPs проявляють антибактеріальну активність. SeNPs, синтезовані *R. eutropha*, інгібували ріст *P. aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli* та *Streptococcus pyogenes*, а у концентрації 500 мкг/мл SeNPs інгібують ріст патогенних грибів *Aspergillus clavatus*, водночас

антимікробна ефективність SeNPs може бути співставна з антибіотиком ампіциліном [266]. SeNPs, синтезовані *E. faecalis*, можуть використовуватися як антистафілококові елементи для профілактики та лікування інфекцій *S. aureus* [324]. SeNPs із застосуванням каркасів біоактивного скла (45S5Bioglass) та полі(молочно-со-гліколевої кислоти) (PLGA) (45S5Bioglass / SeNPs та 45S5Bioglass/ PLGA /SeNPs) показав значну антибактеріальну активність щодо до грам-позитивних бактерій *S.aureus* та *Staphylococcus epidermidis* [308].

У дослідженні [368] представлено антибактеріальну дію наночастинок Qe/CdSe/ZnS (кверцетин/селенід кадмію/ сульфід цинку) (QCZNPs) на лікарську резистентність кишкової палички та *B. subtilis in vitro*. QCZNPs мали ефективнішу антибактеріальну активність, аніж Qe чи CdSe NPs. Дослідження *in vitro* [272] показало, що селенові покриття на полікарбонатних медичних пристроях значно інгібували ріст *S. aureus* до 27 % порівняно з непокритою поверхнею.

Антимікробна активність SeNPs залежить від способу їх синтезу. Оцінено антимікробну ефективність сферичних біогенних селенових наноструктур, вбудованих у органічний матеріал, що виробляється *B. mycooides* SelTE01, порівняно з двома різними класами хімічних SeNPs, отриманих з використанням L-цистеїну чи аскорбінової кислоти [201]. Біогенні SeNPs показали однаково ефективну антибіоплівкову активність щодо штамів *P. aeruginosa* та *S. aureus*. Хімічно синтезовані SeNPs у найвищій протестованій концентрації (2,5 мг/мл) показали помірну антимікробну активність. Повідомлено про значно сильніший антимікробний ефект SeNPs, синтезованих грам-негативними *S. Maltophilia* та грам-позитивними *B. Mycooides* [49] порівняно із синтетично приготованими. Обидва біогенні типи NPs були активні за низьких мінімальних інгібувальних концентрацій щодо низки клінічних ізолятів *P. Aeruginosa*. Після впливу на дендритні клітини та фібробласти людини трьох SeNPs не спостерігали втрати життєздатності клітин, підвищеного вивільнення АФО та значного збільшення секреції прозапальних та імуностимулювальних цитокінів, що свідчить про надійність застосування SeNPs у медицині, самостійно чи у комбінації із традиційними антибіотиками для інгібування росту клінічних ізолятів *P. aeruginosa*.

SeNPs показали протипухлинну активність [146; 187], мають високий потенціал у хіміотерапії раку [368; 371] та як носії лікарських засобів [32; 33; 59]. Протипухлинні ефекти SeNPs опосередковані їх здатністю інгібувати ріст ракових клітин через індукцію зупинки клітинного циклу в S-фазі [4; 303; 304]. Індукція зупинки клітинного циклу на S-фазі опосередкована дерегуляцією білкового комплексу eIF3 [201]. Клітинна мембрана впливає на спричинену SeNPs токсичність у ракових клітинах. Лікування SeNPs змінює біомеханічні властивості ракових клітин, зокрема знижує силу адгезії та модуль Юнга [201]. Доведено, що SeNPs забезпечують кращу селективність між нормальними та раковими клітинами, ніж  $Se^{+4}$  за аналогічних концентрацій [90]. SeNPs можуть селективно інтерналізуватися раковими клітинами ендоцитозом та індукувати апоптоз клітин запуском шляхів апоптичної трансдукції сигналу [161; 205]. Nano-Se має вищу протиракову ефективність порівняно з іншими сполуками Селену [185], ключовим механізмом якої є індукція глутатіон-S-трансферази (GST) Селеном [373]. Активність GST у разі введення Nano-Se збільшилась набагато раніше і помітніше, ніж за SeMet та селеніту.

Нові селензаміщені гідроксиапатитні NPs (SeHAN) можуть стати протираковим засобом, що забезпечує перевагу виживання та нижчу токсичність для моделі гепатоцелюлярної карциноми у голих мишей [371], а збагачені SeNPs *Lactobacillus brevis* значно збільшують цитотоксичність природних клітин-кілерів, впливають на реакції гіперчутливості уповільненого типу, збільшують тривалість життя та зменшують метастазування пухлини [151].

Окрім прямих протиракових ефектів, SeNPs були призначені як потенційні носії протиракового доставлення ліків [4; 303; 304]. Основним чинником, що сприяє цитотоксичності ліків на основі наноматеріалів, є клітинне поглинання [94]. Нанорозмір цих матеріалів дає змогу ефективно поглинати клітини різних типів та вибірково накопичувати ліки в місцях призначення. Як і інші хіміотерапевтичні засоби, ефективна цитотоксичність наноматеріалу на основі лікарських засобів потребує високого рівня накопичення всередині ракових клітин [92]. Наноматеріали мають тенденцію накопичуватися у ракових клітинах у процесі пасивного націлювання і часто є «наноносіями» для хіміотерапії

[257]. Крім того, використання різних декораторів поверхні збільшує клітинне поглинання та протиракову ефективність наноматеріалів [161].

Вплив Nano-Se на параметри окисного стресу порівнювали з ефектом органічно зв'язаного селену. Виявлено, що Nano-Se має порівняну ефективність у збільшенні активності GPx у плазмі мишей, як SeMet, однак демонструє значно нижчу токсичність. Результати дослідження свідчать, що Nano-Se можна вводити як антиоксидант зі зниженим ризиком токсичності Селену [303]. Підвищена регуляція селеноферментів елементним Nano-Se також порівняна з ефектом селеніту та Se-MetSeCys, зі значним зниженням гострої токсичності [52].

Досліджено вплив SeNPs на експресію білків теплового шоку (HSP) та гена HSP90 як додаткових параметрів окисного стресу [197]. Посилення кисневого обміну зумовлює утворення АФО [27]. Інтенсивне тренування рисаків може призвести до окисного стресу, утворення АФО та, унаслідок, до пошкодження ліпідів, білків і ДНК [355]. Крім адаптивних змін у захисних ферментах (SOD, каталаза [355], GPx [258]), оксидативний стрес у клітинах, як відомо, зумовлює збільшення виробництва стресу чи HSP [355]. Експресія HSP є адаптивним механізмом проти порушення клітинного гомеостазу [27] та цілісності [75; 85] під час фізичних вправ.

SeNPs є перспективним засобом перевірки хронічної токсичності, зумовленої впливом важких металів. SeNPs, синтезовані з використанням екстракту листа *T. arjuna* [136], виявили захисний ефект SeNPs для лімфоцитів людини, оброблених арсенітом ( $As^{+3}$ ), що надалі можна використовувати для мінімізації зумовленого арсеном синтезу АФО, пов'язаного із токсичною небезпекою в районах із забрудненими арсеном ґрунтовими водами.

Виявлено захисну здатність SeNPs щодо спричиненої шестивалентним хромом тиреотоксичності [151]. Токсичний ефект унаслідок кисневого пошкодження, зумовленого внутрішньочеревним введенням шурам однократної дози дихромату калію ( $K_2Cr_2O_7$ , 60 мкг/кг), проявлявся значним зниженням рівнів вільного  $T_3$  (трийодтироніну),  $T_4$  (тироксину) та глутатіону, а також значним підвищенням рівнів активності CAT, SOD та вмісту MDA. Введення SeNPs сприяло корекції

гормональних рівнів та біомаркерів окисного стресу.

Селен проявляє захисну дію щодо зумовленої кадмієм нефротоксичності [25]. Двотижневе пероральне введення  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  на тлі введення Cd у сублетальній дозі знижує перекисне окиснення ліпідів та відновлює активність GPx та SOD у нирках. Додатки Селену сприяли накопиченню ниркового Cd у вигляді NPs CdSe та/чи сульфїду кадмію (CdS) (розміром приблизно 62 нм), що свідчить про здатність Cd індукувати біосинтез червоних флуоресцентних NPs CdSe та CdS у нирках. Зниження Cd-індукованої ниркової токсичності введенням Селену, ймовірно, пов'язано з його здатністю зв'язувати Cd у нанорозмірних нерозчинних та флуоресцентних комплексах, що свідчить про зниження зумовленого кадмієм окисного стресу комплексуванням Cd з Se чи S на нанорозмірному рівні.

Хронічний окисний стрес знижує реакцію нейтрофілів на респіраторний вибух [38]. Nano-Se, що має імуностимулювальний потенціал [151], сильніший та ефективніший у підтриманні системи антиоксидантного захисту порівняно із  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , що ґрунтується на збільшеній хемотоксичній активності та активності нейтрофілів дихального вибуху [266].

Нанорозмірний Селен позитивно впливає на ферментацію рубця та збільшує конверсію поживних речовин [259], на біохімічні показники органів та тканин [14]. Синтезовані *Lactobacillus spp.* (*Lactobacillus plantarum* та *Lactobacillus johnsonii*) SeNPs знижують життєздатність *C. albicans*, що може бути використано у пробіотичних препаратах [177].

Наноструктуровані ліпідні носії з покриттям із Селену (SeNLC) підвищують пероральну біодоступність та посилюють гіпоглікемічну дію берберину та антидіабетичну дію фітопрепаратів [259]. Нано-Se ефективний у лікуванні ожиріння печінки, що є ознакою метаболічного порушення молочних корів одразу після отелення [126] і призводить до смертності без належного лікування у 25 % випадків. Повідомлено також [99] про вплив Nano-Se на терапію FLD у самців щурів лінії Wistar.

Попри дедалі більшу зацікавленість у SeNPs та широкий спектр позитивних ефектів, існують сумніви щодо їх токсичності та використання у клініці. Введення Селену може попередити рак та знизити його захворюваність самостійно [192] та у комбінації з

хіміотерапевтичними та гормональними препаратами [356], нанотехнології поліпшують профіль розподілу протиракових препаратів у тканинах і клітинах [94], зменшують побічні ефекти [379] та посилюють апоптоз ракових клітин [356]. Селен проявляє вузьку межу між корисними та токсичними ефектами, ефективна його доза як протиракового засобу наближається до межі токсичності. Однак вплив Селену на здоров'я залежить не тільки від його концентрації, але й від хімічної форми [126]. Елементарний Nano-Se є менш токсичим порівняно з SeMet та Se-MetSeCys [303] зі співставною ефективністю у регуляції рівнів селеноферментів та Селену у тканинах.

SeNPs ефективніше за органічні та неорганічні селеносполуки видаляють вільні радикали *in vitro* [52], а їх токсичність *in vivo* у 4–6 разів нижче, ніж у SeMet та Se-MetSeCys [52]. Вища токсичність селеніту, SeCys та SeO<sub>2</sub> пов'язана з їх здатністю ініціювати окиснення толових груп білків [39], що може призвести до зміни активності ферментів із сульфгідрильною групою [284]. Селеніт інтенсивніше за Nano-Se знижує рівень GPx у печінці, збільшує вироблення MDA, знижує активність SOD та CAT у печінці [52]. Nano-Se корегує гострі важкі ураження печінки, проявляючи меншу власну токсичність [303]. Крім того, мікросфери SeNPs є ефективнішими та безпечнішими, порівняно з іншими формами [28], як і біметалеві (Ag-Se) NPs [223]. Nano-Se також є менш токсичним, аніж білок з високим вмістом Селену [223]. Відповідно, SeNPs мають ширший діапазон між корисними та токсичними ефектами і можуть бути потенційним хіміопрофілактичним засобом з пониженим ризиком токсичності [84].

У дослідженні на моделях ссавців [127] більш вираженою токсичність була за використання неорганічного селену (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, NaHSeO<sub>3</sub>), ніж після підгострого застосування Sel-Plex (природного джерела органічного селену, що складається переважно із амінокислот (SeCys, SeMet), що виробляється *S. cerevisiae*), Nano-Se (синтезується штамами йогурта *L. acidophilus S.thermophilus* та *L. casei*) чи LactoMicroSe (збагачений Селеном порошок йогурту *L. acidophilus S.thermophilus* та *L. casei*). Токсичність видів Селену знижувалась у порядку: селенат > селеніт > нано-Se > Sel-Plex > лакто-MicroSe [255].

У дослідженнях щодо токсичності Nano-Se для водних

організмів отримано суперечливі результати [34], що пов'язано із багатостороннім (дієтичним та водним) впливами. Однак у дослідженнях [34] використовували хімічно приготовані NPs, біогенний нано-Se [212] є менш токсичним, як і SeNPs [304], виділені новим способом із грам-позитивних бактерій *B. licheniformis* JS2.

Отже, технічно модифікуючи наночастинки, отримані різними методами, можна застосовувати SeNPs як кормову добавку та контролювати ефекти, що вони здійснюють на організм [329]. Досліджуючи проблеми традиційних форм кормового Селену та переваги SeNPs, механізми проходження наночастинок через слизову оболонку кишечника та особливості їх перорального застосування, результати доводять, що важливістю Селену є регуляція у складі селенопротеїнів фізіологічних процесів, вплив на продуктивні та репродуктивні властивості. Корекція його вмісту у раціоні попереджує низку селенодефіцитних захворювань, а Селен у наноформі є найдоцільнішим для застосування через високу біодоступність та низьку токсичність, що є особливо актуальним.

Мікроорганізми за наявності високих концентрацій металів розробили специфічні механізми адаптації для зниження їх токсичності, що передбачає зміну хімічної природи металу [154]. Це призводить до утворення наночастинок відповідного металу, які є “побічним продуктом” механізму адаптивного захисту. Такий “зелений” синтез може бути використано як альтернативу фізичним та хімічним методам їх отримання [195].

Впродовж останніх десятиліть лактобацили широко застосовують як пробіотики у продуктах і кормах для здорового харчування та годівлі тварин і птиці. Створення пробіотиків, збагачених Селеном, бактерій, обумовило неабиякий інтерес через властивості Селену (Se), що входить до складу щонайменше 30 селенопротеїнів, що забезпечували активність імунної системи та впливали на тривалість життя. Селен входить до складу глутатіонпероксидази [53], тиреоредуктази [221] та селеноцистеїну 21-ї амінокислоти, яка бере участь у біосинтезі цистеїну (Cys) та реакціях, що знижують процеси окиснення у людини та бактерій.

Однак між концентрацією Se є вузький діапазон, в якому він важливий, і надає токсичну дію. Добова норма для Se у складі

селеноцистеїну становить 60 мкг/добу для жінок і 70 мкг/добу для чоловіків [221]. У високих концентраціях (900 мкг/добу) Селен стає надзвичайно токсичним [48]. Препарати Se у вигляді L-селенометіоніну швидко і повністю засвоюються організмами і зумовлюють мінімальні побічні ефекти. Селенометіонін (Se-Met) доданий у сайт метіоніну у різних білках і забезпечує регуляцію ендокринної системи, однак Se-Met не синтезується в організмі [277]. У зв'язку з цим велику увагу приділяють біодоступним формам Se, зокрема біоселену, які можна отримати за допомогою пробіотичних мікроорганізмів.

Нині широко застосовують для екологічного «зеленого» синтезу бактерії, зокрема *L. plantarum* та *B. subtilis*. *B. subtilis* використовують як підхід до детоксикації селенатів у селеніті та відновлення селену й утворення елементарного Селену ( $Se^0$ ) та/або наночастинок Селену (SeNPs) [91; 92; 314]. *B. subtilis* здатна здійснювати реакції окиснення/відновлення завдяки специфічному селеноензиму – метилтрансферазі селену та редуцтазі оксиду селену, які мають певну гомологію з арсенатом зі скороченнями *B. subtilis* 168 [270; 269].

Крім того, було показано, що бактерії видів *B. subtilis* мають гомологи NifS (азотфіксація) системи *Azotobacter vinelandii* [312]. Гомологи NifS мають загальне значення у мобілізації сірки для синтезу «азотфіксуючої» системи кластерів Fe-S, які підтримують внутрішньоклітинний окисно-відновний гомеостаз. Скупчення генів *nifS* у прокариотів та еукаріотів мають високий ступінь секвенування, хоча гени мають різноманітні функції. Наявність гена, подібного до *nifS*, виявлено для бактерій виду *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*. Отже, продукт гена, схожого на *nifS*, як *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, згідно з послідовностями, був на 33 % гомологічним продуктом гена *nifS* *B. subtilis*. Наявність гена, подібного *nifS*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* представляє інтерес, оскільки білок NifS *Azotobacter vinelandii* разом із селеноцистеїном є частиною системи генерування  $Se(0)$ , здатної замінити селенід для біосинтезу селенофосфату *in vitro* [306]. Отже, показано, що *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* LB-12 виявив здатність концентрувати Se внутрішньоклітинно у вигляді наночастинок [194]. Наявність генів, схожих на *nifS*, в *Azotobacter vinelandii*, що фіксує азот, а також у *B. subtilis* *L. bulgaricus* та



*S. cerevisiae*, які не фіксують азот, доводить, що продукти гена NifS зберігалися під час еволюції. Показано, що деякі гомологи NifS каталізують однотипні реакції, тобто видалення атома сірки або селену з L-цистеїну або L-селеноцистеїну з отриманням L-аланіну. Білки NifS діють як на L-цистеїн, так і на L-селеноцистеїн [145].

Водночас кілька ферментів, що беруть участь у метаболізмі сірки, також діють на аналоги Селену субстратів [106]. Отже, серед білків NifS, до складу яких входить селеноцистеїнелаза (SCL) (EC 4.4.1.16) та цистеїну десульфуреза, а саме SCL, вважають фермент, що розкладає лише L-селеноцистеїн. Показано функцію селеноцистеїну (Se-Cys) у синтезі специфічних ферментів селену [48]. Отже, селенопротеїни, зокрема формаатдегідрогеназа *Escherichia coli*, містять залишки селеноцистеїну. Селеноцистеїл-tRNASec необхідний для біосинтезу цих селенопротеїнів.

Селенофосфат є високореакційною сполукою, що містить селен, і донором селену для отримання селеноцистеїл-tRNASec. Селенофосфат синтезується з селеніду та АТФ, каталізатором реакції є селенофосфатесинтетаза. Lacourciere і Stadtman [145] виявили, що заміна селеніду NifS та L-селеноцистеїном в аналізі селенофосфатесинтетази *in vitro* призвела до збільшення швидкості утворення селенофосфату, що вказує на те, що Селен, отриманий з L-селеноцистеїну під дією NifS, кращий субстрат, ніж селенід для селенофосфатесинтетази. Тобто для *E. coli* донором селену, необхідного для перетворення серину в селеноцистеїн-tRNASec, був селенофосфат. Селенофосфат – багате джерело енергії, де мікроелемент Селену безпосередньо пов'язаний з атомом фосфору.

Було встановлено, що кишкова паличка здатна продукувати специфічні білкові типи (*AdhP*, *Idh*, *OmpC* and *AceA*), які пов'язані з синтезом SeNPs і відповідають за генерування однорідних SeNPs [64]. Окрім того, ці численні групи мікроорганізмів здатні зводити токсичні розчинні форми Se(VI)/Se (IV) до менш токсичних нерозчинних Se<sup>0</sup>, видимих як червоні наночастинки – SeNPs. Виявилося, що SeNPs, отримані мікроорганізмами, мають негативний дзета-потенціал, що спричиняє невелику тенденцію агрегації, які виявляють більшу стійкість до підтримання ступеня дисперсності [243].

Серед бактерій, здатних знижувати вміст Se (IV), було проведено розподіл альфа-, бета-, гамма-, дельта-протеобактерій та

фімікутетів [146; 243; 274]. Метаболізм Селену відбувається за допомогою селенофосфатної синтетази [291] і селеноцистеїн синтети (SecS). Селенофосфатна синтетаза генерує донор селену для біосинтезу Se-Cys у бактерій [315]. Se-Cys може метаболізуватися білками, залежними від піридоксального фосфату, селеноцистеїназою, щоб вивільнити елементарний Селен [145].

SeNPs утворюються не лише в аеробних та анаеробних умовах, але й з'являються в цитоплазмі, периплазмі та/або зовнішніх клітинах різних бактерій [179], передбачаючи різні механізми відновлення Se(IV). Утворені мікроорганізмами, Se<sup>0</sup> або SeNPs можуть вивільнятися клітинами, лізісом клітин або везикулами.

У біологічному аспекті значну увагу привертають бактерії виду *B. subtilis*, які за аеробного вирощування за наявності селеніту здатні утворювати сферичні SeNPs [77]. Для опису механізму мікробного синтезу SeNPs було запропоновано різні гіпотези. Це, насамперед, двоступеневий процес відновлення від (SeO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) до (SeO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) з подальшим накопиченням нерозчинного елементарного Селену (Se<sup>0</sup>) за допомогою каталізаторів – редуктази селену та селену [293]. Отже, грам-позитивні бактерії та грам-негативні мікроорганізми можуть мати різні механізми зниження вмісту селеніту [118].

Однак передумовою високої толерантності до селеніту може бути високий рівень цитоплазматичних молекул, що несуть дисульфід, які діють як каталізатори відновлення дисульфідів та функціональна система захисту від окисного стресу. Окиснення низки органічних субстратів (наприклад, ацетат, лактат, піруват, гліцероланд-етанол) або водню може бути пов'язане з відновленням арсенату та селенату, однак використовуваний донор відрізняється за видами. Відомо, що периплазматичний SER (селенатредуктаза) та пов'язані з мембраною арсенати мікроорганізмів містять молібден [270].

Система детоксикації селенових бактерій виду *B. subtilis* залежить не від акцепторів електронів нітриту чи сульфату, а від субстрату. Для *B. subtilis* характерне скупчення гранул Se<sup>0</sup> у клітині або між клітинною стінкою та плазматичною мембраною [92].

Однак присутність гранул селену спостерігали тимчасово, при збалансованого зростання клітин *B. subtilis*, які були адаптовані до

селенітовмісного середовища; наявність джерел Селену не була очевидною. Для утворення відкладень SeNPs з 1 mM розчину селеніту в культивованому середовищі *B. subtilis* не потрібно створювати збалансований ріст клітин. Поява та утворення SeNPs можуть спричинити лікування лізоцимом *B. subtilis* [91]. Відсутність накопичення SeNPs у внутрішніх відділеннях *B. subtilis* може сприяти накопиченню селенензимів. Властивість культур *B. subtilis* накопичувати  $Se^0$  у вигляді SeNPs у внутрішньоклітинному середовищі, відновлювати дисиміляцію селеніту можна використовувати не лише для біологічного очищення, але і для продуктів SeNPs.

Мікробне відновлення сполук Селену відбувається як у периплазматичному просторі (внутрішньоклітинному), так і позаклітинному з утворенням біогенних елементарних наночастинок Селену (BioSeNPs), які є стійкими і залишаються в колоїдній суспензії впродовж тижнів [76].

Природно, мікроорганізми здатні засвоювати елементарний Селен ( $Se^0$ ) [194] до утворення органічних сполук селену (Se-Cys, Se-Met) [194; 269]. У зв'язку з цим слід виділити вплив наночастинок Селену на біологічні властивості *B. subtilis* IMV B-7392, що генетично пов'язано з *B. subtilis* 168, для створення нових біологічних BioSeNPs як харчових добавок, кормових добавок або харчових рослин.

Селен відомий антиоксидантною активністю та участю в оптимізації редокс-потенціалу, репродуктивних процесах, метаболізмі гормонів щитовидної залози, розвитку м'язів та антиканцерогенезі [215; 279]. У формі Nano-Se сприяє вищому утриманню Se через менші розміри та більшу біодоступність [28]. Nano-Se показав кращі результати щодо збільшення маси тіла порівняно з селенітом натрію у раціонах бройлерів [279]. Подібні результати спостерігали також за додавання до основного раціону 0,3 мг/кг Se у вигляді наноелементарного Se, натрію селеніту або селеновмісних дріжджів [50]. Доповнення нано-Se (0,2, 0,3, 0,4 та 0,5 мг/кг) у раціоні бройлерів покращувало показники росту, імунні функції та післязайбні показники птиці, не впливаючи на внутрішні органи. Поєднання пробіотиків та наночастинок Se також сприяло поліпшенню росту, жирнокислотного профілю скелетних м'язів та вмісту  $\alpha$ -токоферолу в сироватці крові

бройлерів [268]. Окрім того, нано-Se оптимізував антиоксидантний статус через вплив на активність антиоксидантних ензимів та підвищив рівень IgG та IgM порівняно з органічними та неорганічними сполуками Se в умовах окисного стресу [11] у курей та термічного стресу [209] у бройлерів за одночасного покращення показників росту та імунітету, активізуючи експресію генів цитокінів.

Аналізуючи дані літератури та власних досліджень встановлено вплив різних форм Селену на метаболічні процеси в організмі курей та перепелів, що, ймовірно, обумовлено дією елемента на чинники транскрипції [208]. Вважається, що окисний стрес активує низку чинників транскрипції / шляхів, зокрема Nrf2, NF- $\kappa$ B, AP1, TP53, HIF-1 $\alpha$ , HSF1, PPAR- $\gamma$ , MAPK, FoxO, NOTCH, CREB, SCREB1, SP [333]. Активація цих чинників транскрипції пов'язана з експресією понад 500 різних генів [333]. Вони модулюють антиоксидантну захисну мережу, впливають на генерацію АФО та антиоксидантні ензими, які є критично важливими для адаптації організмів до різних стресів. Зокрема Nrf2 є чутливим головним регулятором сигналів, пов'язаних з окисним стресом, відповідальним за адаптивні реакції на стрес [141]. Очевидно, що Nrf2 виконує життєво важливу функцію адаптації до окисного стресу внаслідок індукції експресії різних захисних молекул [157]. Активація Nrf2 відповідає за регуляцію низки процесів, методом прямої інактивації окисників, підвищення рівня синтезу GSH, Trx та NADPH, посилення експорту токсинів через транспортери мультиреакцій, інгібування опосередкованого цитокінами запалення, посилення розпізнавання, відновлення та видалення пошкоджених білків, збільшення шаперонів та регулювання посттрансляційних модифікацій білка [241].

Дослідженнями встановлено, що біоаноселен ефективно впливає на активність основних антиоксидантних ензимів першої лінії антиоксидантного захисту, зокрема, SOD, каталазу та глутатіонзалежні ферменти. Їх активація відбувається завдяки Nrf2. Ці ензими знешкоджують вільні радикали на місці їх утворення. Оскільки супероксидний радикал є основним радикалом у біологічній системі, його ефективне видалення є головним завданням першого рівня антиоксидантного захисту [315]. Однак у результаті дії SOD утворюється  $H_2O_2$ , який переважно

знешкоджується GPx [314; 317]. Глутатіон (GSH) – найпоширеніший небілковий тіол клітин, який контролює окисно-відновний баланс та сигналізацію, регулює чинники транскрипції та експресію генів та багато інших важливих клітинних шляхів / процесів, зокрема епігенетичні механізми [116].

Для синтезу глутатіонзалежних ензимів необхідний GSH, який є трипептидом, утвореним із L-глутамату, L-цистеїну та гліцину. GSH каталізує утворення глутатіону глутаматцистеїнлігаза (GCL), яка є обмежувальним чинником біогенезу GSH [70]. Регульований Nrf2 синтез GCL має велике значення для ефективності антиоксидантної захисної системи. Дійсно, GSH синтезується винятково в цитозолі та компартменталізується в різних органелах, зокрема ядрах, ендоплазматичному ретикулумі та мітохондріях. Ядерний GSH бере участь у збереженні білків, які задіяні у відновленні ДНК та транскрипції генів. Окрім того, мітохондріальний GSH зберігає цілісність мітохондрій, контролюючи генерацію АФО мітохондрій та апоптотичну сигналізацію [262]. Отже, клітинний GSH є основним регулятором різних біологічних процесів, зокрема синтезу ДНК та білків, впливаючи на ріст та проліферацію клітин, апоптоз, імунітет, транспорт амінокислот, метаболізм / детоксикацію ксенобіотиків та ендогенних окиснювачів, окисно-відновну передачу сигналу тощо. З одного боку, тіолова група GSH може безпосередньо реагувати та детоксифікувати низку АФО, зокрема  $H_2O_2$ , супероксидний аніон, гідроксильні радикали, алкоксильні радикали та гідропероксиди [262]. З іншого боку, існує низка білків із GSH-залежною гідропероксидазною активністю [82]. Важливо, що в стресових умовах GSH виконує життєво важливу функцію як окисно-відновний буфер (GSH / GSSG) [82], що контролює редокс-потенціал живих клітин, запобігає втраті білкових тіолів і забезпечує оптимальне окисно-відновне середовище для сигналізації [122], або глутатіонуванням білка (безпосередня модифікація залишків білкового цистеїну додаванням GSH), або за допомогою очищення пероксиду водню [104].

Встановлено вплив різних форм Селену на морфометричні показники кишечника курчат-бройлерів. Як відомо, шлунково-кишковий тракт проявляє захисний механізм, що передбачає фізичні бар'єри та специфічні умови середовища [318]. Це

наявність слизової оболонки, клітини якої характеризуються великою швидкістю оновлення, що запобігає колонізації патогенними мікроорганізмами. Захисні властивості муцину попереджають проникнення мікроорганізмів та їх прикріплення до ворсинок кишківника. Підтримання у залозистому шлунку та тонкому відділі кишківника кислого середовища є несприятливим чинником для розвитку патогенної мікробіоти, а наявність кисню блокує розвиток аеробних бактерій [9]. Окрім того, у кишківнику розміщено власні компоненти імунної системи, зокрема, антимікробні пептиди, лізоцим, муцин, синтез якого регулюється цитокінами, бактеріальними продуктами та чинниками росту. Імуноглобуліни, що продукуються у кишківнику, сприяють успішному антимікробному захисту, а лімфоїдна тканина розпізнає чужорідні антигени та здійснює відповідь за участю чинників вродженого та набутого імунітету. Ще одна група чинників, які сприяють захисним властивостям – це синергічна мікробіота, їх бактеріофаги та продукти життєдіяльності, зокрема бактеріоцини та коротколанцюгові жирні кислоти [315].

У результаті досліджень встановлено, що додавання до раціону перепелів біогенного наноселену з пробіотиком сприяло достовірному збільшенню у тканинах печінки вмісту відновленого глутатіону та HS-групи білків. Селеніт натрію з пробіотиком та біогенний наноселен з пробіотиком сприяли достовірному підвищенню активності ГПО та ГР. Відомо, що співвідношення GSH / GSSG є основним показником клітинного редокс-потенціалу і відображає окисно-відновний баланс. В умовах окисного стресу знижений редокс-потенціал (співвідношення GSH / GSSG) спричиняє S-глутатіонування білка: змішане утворення дисульфідів між реактивними тіолами та GSH, змінюючи фізіологічні функції уражених білків. Насправді аномальне білкове S-глутатіонування пов'язане з різноманітними шкідливими клітинними змінами, зокрема агрегація білка, деградація білка, апоптоз та дисфункція мітохондрій [261].

Окисно-відновна система тіолу, що складається з системи глутатіону (глутатіон / глутатіонредуктаза / глутатіонпероксидаза) та тіоредоксинна система (тіоредоксин / тіоредоксинпероксидаза (пероксиредоксини) / сульфідредоксин / тіоредоксинредуктаза) є основними компонентами системи регулювання окисно-відновного

гомеостазу [292; 138; 224; 382]. Система тіоредоксинів бере участь у окисно-відновній регуляції експресії генів, що регулюють різні клітинні функції, зокрема синтез дезоксирибонуклеотидів (синтез та відновлення ДНК), біосинтез білка, дію гормонів та цитокінів, апоптоз тощо [202]. Регульований Nrf2 синтез основних компонентів тіоредоксинової системи є основним елементом антистресової стратегії в клітинах.

Тіоредоксин (Trx) птахів – білок, що містить 105 амінокислот з молекулярною масою 11700. Виявлено, що підвищена експресія Trx у фолікулах яєчників перепелів пов'язана з високими показниками несучості [367]. Показано, що Trx експресується в товстій кишці курей [359]. Харчові добавки Селену (0,4 мг/кг) підвищували активність TrxR у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки, печінки та нирок [248]. Тимчасом дефіцит Se знижував експресію / активність TrxR у щитовидній [188] та підшлунковій залозах [388], жировій тканині [186], нирках [364] та слизовій оболонці дванадцятипалої кишки [347]. Результати досліджень узгоджуються з даними літератури щодо протекторної дії сполук Селену.

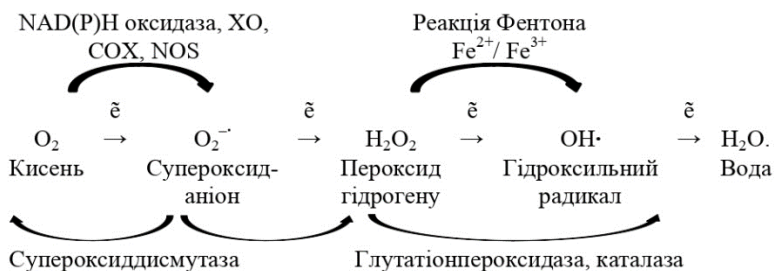
## **2.6. Наночастинки діоксиду церію як унікальний поліфункціональний антиоксидант та модулятор сигнальних шляхів у клітині**

Церій (Ce) – рідкоземельний елемент (порядковий номер 58), який належить до лантанодів. Унікальність Церію (електронна конфігурація  $4f^15d^16s^2$ ) обумовлена тим, що він може існувати у різних станах окиснення ( $Ce^{3+}$  та  $Ce^{4+}$ ), на відміну від більшості рідкоземельних металів, які переважно існують у тривалентному стані [76; 106; 168; 213; 246]. Сам церій не має біологічного значення в фізіології ссавців, однак розчинні солі  $Ce^{3+}$  традиційно використовують у біомедичних цілях через їх бактеріостатичну, бактерицидну, імуномодулювальну та протипухлинну активність [55; 56; 336]. Нанодисперсний діоксид церію (НДЦ) застосовують у процесах механічного полірування, розробленні антикорозійних покриттів для металів і сплавів та каталізаторів окиснення дизельного палива [8]. Посилився фундаментальний та практичний інтерес до розроблення та застосування наночастинок як потенційних каталітичних антиоксидантів у біології та медицині [55; 60; 174; 231; 385; 265; 385].

Біологічна активність наночастинок діоксиду церію визначається його кисневою нестехіометрією, яка залежить від розміру наночастинок і поверхневого ліганду [246]. Високий ступінь біосумісності, низька токсичність і каталітична активність нанодисперсного діоксиду церію дає змогу розглядати його як перспективний наноматеріал для біомедичного застосування [15; 119; 232; 246; 295; 313; 385]. Однак нині всі можливі механізми його біологічної активності є мало вивченими.

Різні міметики з подібним ефектом можуть мати окремі якості, що дає змогу створювати різноманітні біологічно активні речовини з таким ефектом, але зі специфічними особливостями і можливостями застосування [10; 317]. Їх дія на рецептори призводить до активації чи пригнічення функції клітин [10].

Існують повідомлення про функцію нанокристалічного діоксиду церію щодо захисту від оксидативного стресу [8; 391]. Більшість живих організмів на Землі у своїй життєдіяльності не обходяться без споживання кисню. У результаті ланцюжка реакцій одноелектронного відновлення кисню у тваринних і рослинних клітинах утворюються активні форми кисню, утворення і руйнування яких у клітинах живих організмів проходить за схемою:



NAD(P)H оксидаза, циклооксигеназа (COX), ксантинооксидаза (XO) і синтетаза оксиду азоту (NOS) відповідальні за утворення супероксид-аніонів, частина з яких вивільнюється з електронно-транспортного ланцюга [249], пошкоджує білки та сприяє утворенню ще більш реакційноздатних пероксидних радикалів [8; 249]. Супероксид-аніони під дією ферменту супероксиддисмутази (SOD) перетворюються в пероксид гідрогену. У присутності іонів перехідних металів (наприклад, Феруму) пероксид гідрогену



здатний вступати в реакції Фентона і Габера-Вейса з утворенням високореактивного гідроксильного радикала. Останній окиснює майже всі органічні молекули – білки, нуклеїнові кислоти та інші біополімери, відриває іони гідрогену від молекул ненасичених жирних кислот й ініціює ПОЛ. Пероксид гідрогену за дії ферментів глутатіонпероксидази і каталази розпадається до води і кисню, минаючи стадію утворення гідроксильного радикала [207; 249].

Необхідний рівень активних форм кисню в організмі регулюють антиоксидантні ферменти; в разі дисбалансу між продукцією АФО і концентрацією ензимів розвивається оксидативний стрес (ОС). Неферментативні компоненти антиоксидантної системи (вітаміни А і Е, деякі білки, глутатіон) [8] забезпечують ще одну ланку захисту організму від АФО; дисфункція будь-якої з яких теж призводить до оксидативного стресу. ОС виникає під впливом психологічних стресів, екзо- та ендогенних інтоксикацій, техногенних забруднень навколишнього середовища та іонізуючого випромінювання (останнє призводить до утворення гідроксильних радикалів внаслідок радіолізу води в клітинах). ОС бере участь у патогенезі понад 100 різних захворювань [76; 207; 253]. Під час старіння здорового організму виникає віковий ОС внаслідок зниження активності природної антиоксидантної (ферментативної) системи, а також у зв'язку зі збільшенням концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів та вільних радикалів, утворених внаслідок модифікуючого впливу ліпопероксидів [8]. У разі порушення захисної (антиоксидантної) системи організму або за значного підвищення рівня екзогенних АФО необхідний сторонній регулятор, який здатний виконувати функцію ферменту або антиоксиданту [117; 207; 249]. Доведено, що нанокристалічний діоксид церію може виступати в якості оксидоредуктаз – ензимів, що регулюють окисно-відновні процеси в біологічних системах [55; 77; 232]. Імовірно, НДЦ має оберігати клітини від руйнування за впливу несприятливих чинників, що зумовлюють ОС.

Киснева нестехіометрія і пов'язана з нею можливість участі НДЦ в окисно-відновних процесах у живих клітинах, а також здатність до ауторегенерації забезпечує високу ефективність його застосування [142; 246]. Для НДЦ показана УФ-захисна дія, різна за ефективністю для окремих тканин [391], перспективність

застосування за терапії пухлинних процесів [8], поліпшення якості життя [286]. НДЦ має антивірусну [8], пробіотичну та антибактеріальну [133] дію.

Розроблення високоефективних небілкових аналогів ензимів є актуальним завданням сучасної медицини, біології та сільського господарства. Нині створено кілька типів штучних ферментів, що замінюють природні аналоги [10; 129; 232; 344]. Природні ензими і штучні каталізатори мають багато спільного: вони прискорюють протікання реакції та здатні до регенерації [10; 317]. Зазвичай основна відмінність природних ензимів від штучних каталізаторів полягає в швидкості перебігу реакцій. водночас природні ензими, на відміну від штучних, потребують особливих умов навколишнього середовища, зокрема певної температури та реакції середовища [119]. Застосування ферментів-міметиків на основі наноматеріалів створює можливість зниження витрат на їх синтез, підвищення каталітичної активності та стабільності в жорстких умовах [10; 344]. Окрім того, поверхня наноматеріалів може мати більше каталітичних об'єктів (сайтів), тимчасом природні ферменти містять лише одну активну ділянку на одну молекулу. Каталітичні властивості проявляє низка металів, однак лише незначна їх частина може бути використана з біомедичною метою. Це обумовлено можливою токсичністю матеріалів, що визначається здатністю спричиняти оксидативний стрес генерацією активних форм кисню [353] та природою іонів у їх складі.

Останніми роками виявлено ензимоподібну активність нанокристалічного діоксиду церію [132; 264; 328], що обумовлено його кисневою нестехіометрією [246]. Низька енергія утворення кисневих дефектів у кристалічній решітці оксиду церію зумовлює можливість легко вступати в окисно-відновні реакції та інактивувати активні форми кисню та нітрогену [8]. Основною відмінністю НДЦ від класичних антиоксидантів (аскорбінова кислота, токоферол) є його здатність до авторегенерації, тобто багаторазової участі в редокс-реакціях [51]. Згідно з квантово-механічними розрахунками, енергія утворення кисневих дефектів у кристалічній решітці НДЦ знижується за зменшення розмірів частинок [129]. Зміну каталітичної активності наночастинок діоксиду церію можна досягти варіюванням їх розмірів, дисперсності та лігандної оболонки [129]. Це пов'язано з тим, що

наночастинки, на відміну від частинок великого розміру, мають значно більшу кількість поверхневих дефектів [4], які переважно є поверхневими кисневими вакансіями, що спричиняють зміну в локальному електронному та валентному оточенні та стабілізують ступінь окиснення  $\text{Ce}^{3+}$ . Ця властивість надає діоксиду церію здатність накопичувати та вивільняти кисень зі своєї кристалічної решітки залежно від умов оточення. У нанорозмірного діоксиду церію внаслідок збільшення площі поверхні і, відповідно, кількості дефектів у ній зростає інтенсивність  $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$  окисно-відновного циклу та обмін кисню [246].

Наноцерій діє як міметик супероксиддисмутази (SOD) та каталази (CAT), а його ефективність у знешкодженні радикалів пропорційно зв'язана з концентрацією іонів  $\text{Ce}^{3+}$  на поверхні частинки [168; 232].

Супероксиддисмутазаподібна активність наночастинок діоксиду церію була виявлена однією з перших [132; 168; 295]. Супероксидний радикал, який утворюється переважно в мітохондріях та, у разі приєднання протонів, здатний перетворюватися у гідропероксидний, є однією з найбільш руйнівних активних форм кисню [207; 344]. Відомо, що SOD інактивує супероксид-аніон у дві стадії з утворенням пероксиду гідрогену і кисню [119; 288]. Водночас загальна реакція дисмутації супероксид-аніону для діоксиду церію також має дві стадії [168].

Оброблення НДЦ перексидом гідрогену призводить до повної втрати їх SOD-подібної активності, однак через деякий час активність відновлюється, що підтверджує процес авторегенерації поверхні наночастинок (щодо кисневої нестехіометрії) і відновлення до тривалентного церію [132]. SOD-подібна активність наночастинок залежить від розміру. Наночастки розміром 3–5 нм інтенсивніше інактивують супероксид-аніон, аніж наночастинки 5–8 нм. Внесення до НДЦ іонів титану не змінює їх оксидазну активність, однак одночасно знижується SOD-подібна активність [392]. SOD-активність наночастинок діоксиду церію залежить від іонного складу розчину [199]. Фосфат-іони зумовлюють фосфорилування поверхні частинок і призводять до зниження їх здатності виконувати функцію SOD і каталази. Використання стабілізаторів обумовлює різний ступінь адсорбції фосфатних груп поверхнею наночастинок, тобто чутливості до фосфатування.

SOD-подібна активність НДЦ співставна з рівнем натурального ензиму. У разі дисмутації супероксид-аніону відбувається утворення пероксиду гідрогену та перехідної сполуки – гідропероксиду церію  $\text{Ce}(\text{OOH})(\text{OH})_3$  на поверхні нанодисперсного діоксиду церію, тобто фактично відбувається три реакції:

1. Окиснення  $\text{O}_2^{\cdot -} - \bar{e} \rightarrow \text{O}_2$ ;
2. Відновлення  $\text{O}_2^{\cdot -} + \bar{e} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ ;
3. Окиснення-відновлення  $\text{Ce}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Ce}(\text{OH})_4 + 4\text{H}^+ + \bar{e}$ .

НДЦ, на поверхні яких переважає  $\text{Ce}^{3+}$ , найяскравіше проявляють SOD-подібну активність [132]. Редокс-потенціал «ідеального» каталізатора для дисмутації супероксид-аніону перебуває в діапазоні 0,2–0,4 В, якому відповідають наночастинки діоксиду церію саме з високим вмістом іонів тривалентного церію.

Іншою активною формою кисню, яка здатна окиснювати майже всі органічні молекули, є гідроксильний радикал [8; 207; 295]. НДЦ здатний інактивувати високоактивний гідроксильний радикал [119,]. Оскільки час життя  $\text{OH}\cdot$  незначний (кілька наносекунд), то він переважно знешкоджується низькомолекулярними неферментативними антиоксидантами. Присутність наночастинок діоксиду церію зменшує концентрацію  $\text{OH}\cdot$ . Не існує природного аналога ензиму для інактивації гідроксильного радикала, тому достовірно визначити механізм дії НДЦ складно. Передбачуваний механізм інактивації  $\text{OH}\cdot$  в присутності наночастинок діоксиду церію описано в низці робіт [174; 232; 362].

Ще однією з найважливіших АФО є пероксид гідрогену, який перетворюється на воду і кисень за участю катализи. Численні дослідження довели, що НДЦ ефективно захищає клітини від впливу пероксиду гідрогену [8; 344] та інших пероксидів [313]. Молекула  $\text{H}_2\text{O}_2$  взаємодіє з кисневою вакансією, після виділення двох протонів і переходу двох електронів до двох іонів церію виділяється кисень, а киснева вакансія повністю відновлюється. Після цього відбувається приєднання пероксиду до відновленої вакансії, поглинання двох протонів і розкладання зв'язку  $\text{O}-\text{O}$  з переходом двох електронів до іонів  $\text{Ce}^{3+}$ , виділення води повертає НДЦ у початковий стан [4].

Сполуки нанодисперсного діоксиду церію проявляють властивості оксидаз [77]. Водночас встановлено рН-залежну

пероксидазоподібну активність [149; 313]. Процес розкладання каталазою  $\text{H}_2\text{O}_2$  подібний механізму каталітичної дії НДЦ, водночас відбувається декілька переходів з утворенням проміжних сполук [4; 132]. Інтенсивність каталазоподобної дії пов'язують з кількістю іонів  $\text{Ce}^{3+}$  на поверхні наночастинок [232]. Зміну забарвлення НДЦ після реакції з пероксидом гідрогену використовують для створення різних колориметричних тестів і тест-смужок [234]. Встановлено, що розмір і поверхневі ліганди впливають на реакційну активність нанодисперсного діоксиду церію з пероксидом гідрогену. Наночастинки  $\text{CeO}_2$  меншого розміру, які містять більшу кількість церію, є більш реакційно-здатними щодо  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Окрім того, поверхневий ліганд не перешкоджає перебігу реакції розкладу. Виявлено можливість багаторазового використання наночастинок  $\text{CeO}_2$  як антиоксиданта.

Каталазоподібну активність наночастинок можна змінити модифікацією наночастинок діоксиду церію іонами різних металів. Введення цирконію в кристалічну решітку призводило до збільшення швидкості розкладання пероксиду водню, яка зростала зі збільшенням мольного співвідношення цирконію. В іншій роботі наведено протилежні результати [57]. Введення Самарію в кристалічну решітку діоксиду церію призводило до монотонного зменшення швидкості розкладання пероксиду гідрогену залежно від мольного співвідношення Самарію.

НДЦ здатний інактивувати активні форми нітрогену та нітрогеновмісні вільні радикали [88; 232; 253; 295]. Він є активним проти короткоживучих та стабільних нітрокислих радикалів [8], водночас швидкість інактивування значно збільшувалася зі зменшенням розмірів наночастинок. Показано здатність наночастинок  $\text{CeO}_2$  інактивувати пероксинітрал ( $\text{ONOO}^-$ ), що призводить до пошкодження низки біомолекул [88; 89] адсорбцією поверхнею карбонат-іонів.

Нові дані щодо каталітичної активності нанодисперсного діоксиду церію доводять його подібність до фосфатаз [295; 344].  $\text{CeO}_2$  здатний каталізувати гідроліз органічних естерів фосфатної кислоти, водночас швидкість реакції залежить від рН. Зниження концентрації іонів  $\text{Ce}^{3+}$  на поверхні прямо корелює з його фосфатазною активністю [88]. Можливий механізм фосфатазної активності пов'язаний з відщепленням фосфатної групи та її

адсорбцією на поверхні. Наночастинки діоксиду церію не можна назвати повноцінним аналогом фосфатази, оскільки фосфатна група зв'язується з поверхнею наночастинки незворотно. Надалі фосфат церію десорбується і поверхня здатна повторно брати участь у каталітичних реакціях.

Виявлено здатність наночастинок діоксиду церію розкласти бойові отруйні речовини [143]. Модифікація НДЦ рідкоземельними елементами підвищує швидкість розкладання отруйних речовин масового ураження. Фосфатазоподібна активність наночастинок  $\text{CeO}_2$  може бути використана для створення антидотів у разі отруєння фосфорорганічними сполуками, оскільки засіб корекції активності різних транскрипційних чинників пригніченням каталізованих ними каскадів реакцій [8].

Отже, змінюючи стехіометрію нанодисперсного діоксиду церію, можна регулювати його антиоксидантні й прооксидантні властивості та ензимоподібну активність. Існує необхідність подальшого дослідження функцій, властивостей та значення НДЦ з метою поліпшення інтеграції біоміметичних наноматеріалів в організм людини та тварин, що є підставою для нових наукових розробок у галузі біології, хімії, медицини для профілактики, діагностування і лікування різних захворювань.

### **Список використаних джерел до розділу 2**

1. Бандас І.А., Криницька І.Я., Куліцька М.І., Корда М.М. (2015). Наночастинки: важливість сьогодні, класифікація, використання в медицині, токсичність. Медична та клінічна хімія, 17(3), 123–129.

2. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., Співак М.Я., Тимошок О.Н., Мельниченко, Ю.О., Цехмістренко О.С., Олешко О.А. Поліщук В.М. Спосіб інтенсифікації білкового обміну у перепелів. Патент на корисну модель № 135682, 2019.

3. Григорьева М.А., Величко О.А., Шабалдин С.В., Фисинин В.И., Сурай П.Ф. (2017). Регуляция активности витагенов как новая антистрессовая стратегия в птицеводстве: обоснование и производственный опыт. Сельскохозяйственная биология, 52(4), 716–730.

4. Гринько А.М., Бричка А.В., Бакалінська О.М., Бричка С.Я., Картель М.Т. (2015). Розкладання пероксиду водню

нанокompозитами каолін-нанорозмірний оксид церія. *Поверхность*, (7), 274–284.

5. Гунчак А.В., Медвідь С.М., Сірко Я.М. Інтенсивність протеїнового обміну в організмі перепілок та їх несучість за використання мікроелементних добавок до раціонів. *Таврійський науковий вісник* 2018, 102, с 94–99.

6. Жолобак Н.М. (2016). Вопросу о механизме антибактериального и пробиотического действия коллоидного (наноразмерного) диоксида церия. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(1). 9–20.

7. Иванов В.К., Щербаков А.Б., Рябоконь, И.Г., Усатенко А.В., Жолобак Н.М., Третьяков, Ю.Д. (2010). Инактивирование нитроксильного радикала наночастицами диоксида церия. In *Доклады Академии наук* (Vol. 430, No. 5, pp. 639–642).

8. Козик В.В., Щербаков А.Б., Иванова О.С., Спивак Н.Я., Иванов В.К. (2016). Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. Томск: Издательский Дом Томского гос. университета, 2016. 476.

9. Сурай П.Ф., Кочиш, И.И., Фисинин В.И., Никонов, И.Н., Романов М.Н. (2019). Пути поддержания оптимального редокс-баланса в кишечнике птиц: проблемы и решения. In *Мат. Междунар. науч.-практ. конф. Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных*, 42–58.

10. Ульберг З.Р., Горчакова Н.О., Чекман І.С. (2013). Біоміметика та біоміметичні матеріали: медико-соціальний аспект. *Український медичний часопис*, (3), 35–41.

11. Цехмістренко О.С., Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Олешко О.А. (2018). Біоміметична та антиоксидантна активність нанокристалічного діоксиду церію. *Світ медицини та біології*, (1), 196–201.

12. Цехмістренко С.І., Цехмістренко О.С., Яремчук, Т.С. (2009). Застосування Селену за вирощування перепелів. *Науковий вісник ветеринарної медицини: Зб. наук. праць*, 2(68), 105–110.

13. Чекман І.С., Горчакова Н.О., Сімонов П.В. (2017). Біологічно активні речовини як наноструктури: біохімічний аспект. *Клінічна фармація*, 21(2), 15–22.

14. Цехмістренко О.С., Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Спивак М.Я., Тимошок Н.О. (2019). Вплив

пробіотичних препаратів на біохімічні показники крові та печінки перепелів. Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище - виробництво продукції – екологічні проблеми: матеріали 73<sup>ої</sup> Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 229–231.

15. Шадура Ю.М., Бітюцький В.С., Співак М.Я., Мельниченко О.М., Щербаков О.Б., Демченко О.А., Жолобак Н.М. (2015). Доклінічні дослідження гострої токсичності нанокристалічного діоксиду церію. *Вісник Житомирського національного агроекологічного університету*, (2 (1)), 358–363.

16. Щербаков А.Б., Иванова О.С., Співак Н.Я., Козик В.В., Иванов В.К. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. 476 с.

17. Abu-El-Zahab H.S., Hamza R.Z., Montaser M.M., El-Mahdi M.M., Al-Harhi W.A. (2019). Antioxidant, antiapoptotic, antigenotoxic, and hepatic ameliorative effects of L-carnitine and selenium on cadmium-induced hepatotoxicity and alterations in liver cell structure in male mice. *Ecotoxicology and environmental safety*, 173, 419–428.

18. Agüero L., Zaldivar-Silva D., Peña L., Dias M.L. (2017). Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. *Carbohydrate polymers*, 168, 32–43.

19. Akçay F.A., Avcı A. (2020). Effects of process conditions and yeast extract on the synthesis of selenium nanoparticles by a novel indigenous isolate *Bacillus* sp. EKT1 and characterization of nanoparticles. *Archives of Microbiology*, 1–11.

20. Alla D. (2018). Selenium-enriched bacterial protein as a source of organic selenium in broiler chickens.

21. Amani H., Habibey R., Hajmiresmail S.J., Latifi S., Pazoki-Toroudi H., Akhavan O. (2017). Antioxidant nanomaterials in advanced diagnoses and treatments of ischemia reperfusion injuries. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(48), 9452–9476.

22. Anık, Ü., Timur S., Dursun Z. (2019). Recent pros and cons of nanomaterials in drug delivery systems. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1–11.

23. Anzinger J.J., Jin X., Palmer C.S., Dagur P., Barthwal M.K., Kruth H.S. (2017). Measurement of aortic cell fluid-phase pinocytosis *in vivo* by flow cytometry. *Journal of vascular research*, 54(4), 195–199.



24. Armstrong D., Bharali D.J., Armstrong D., Bharali D. (2013). Oxidative stress and nanotechnology. *Methods and Protocols*, 1028.
25. Athmouni K., Mkadmini Hammi K., El Feki A., Ayadi H. (2020). Development of catechin–phospholipid complex to enhance the bioavailability and modulatory potential against cadmium-induced oxidative stress in rat’s liver. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 126(1), 82–88.
26. Atteia H.H., Arafa M.H., Prabahar K. (2018). Selenium nanoparticles prevents lead acetate-induced hypothyroidism and oxidative damage of thyroid tissues in male rats through modulation of selenoenzymes and suppression of miR-224. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 99, 486–491.
27. Avenatti R.C., McKeever K.H., Horohov D.W., Malinowski K. (2018). Effects of age and exercise on inflammatory cytokines, HSP70 and HSP90 gene expression and protein content in Standardbred horses. *Comparative Exercise Physiology*, 14(1), 27–46.
28. Bai K., Hong B., He J., Hong Z., Tan R. (2017). Preparation and antioxidant properties of selenium nanoparticles-loaded chitosan microspheres. *International journal of nanomedicine*, 12, 4527.
29. Baird L., Dinkova-Kostova A.T. (2011). The cytoprotective role of the Keap1–Nrf2 pathway. *Archives of toxicology*, 85(4), 241–272.
30. Baird L., Llères D., Swift S., Dinkova-Kostova A.T. (2013). Regulatory flexibility in the Nrf2–mediated stress response is conferred by conformational cycling of the Keap1–Nrf2 protein complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38), 15259–64.
31. Baldim V., Bedioui F., Mignet N., Margail I., Berret J.F. (2018). The enzyme-like catalytic activity of cerium oxide nanoparticles and its dependency on Ce<sup>3+</sup> surface area concentration. *Nanoscale*.
32. Bao P., Chen S.C., Xiao K.Q. (2015). Dynamic equilibrium of endogenous selenium nanoparticles in selenite-exposed cancer cells: a deep insight into the interaction between endogenous SeNPs and proteins. *Molecular BioSystems*, 11(12), 3355–3361.
33. Bao P., Chen Z., Tai R.Z., Shen H.M., Martin F.L., Zhu Y.G. (2015). Selenite-induced toxicity in cancer cells is mediated by metabolic generation of endogenous selenium nanoparticles. *Journal of proteome research*, 14(2), 1127–1136.
34. Bao P., Li G.X., He Y.Q., Ren H.Y. (2020). Selenium nanovirus and its cytotoxicity in selenite-exposed higher living organisms. *Biochemistry and biophysics reports*, 21, 100733.

35. BarathManiKanth S., Kalishwaralal K., Sriram M., Pandian S.R. K., Youn H.S., Eom S., Gurunathan S. (2010). Anti-oxidant effect of gold nanoparticles restrains hyperglycemic conditions in diabetic mice. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), 16.
36. Bard J.A., Goodall E.A., Greene E.R., Jonsson E., Dong K.C., Martin A. (2018). Structure and function of the 26S proteasome. *Annual review of biochemistry*, 87, 697–724.
37. Batinić-Haberle I., Rebouças J.S., Spasojević I. (2010). Superoxide dismutase mimics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Antioxidants redox signaling*, 13(6), 877–918.
38. Bazi A., Shahramian I., Yaghoobi H., Naderi M., Azizi H. (2017). The role of immune system in thalassemia major: a narrative review. *Journal of Pediatrics Review*.
39. Belyaeva E.A. (2019). Toxic Effects of Zn<sup>2+</sup> and Selenite on Rat Ascites Hepatoma AS-30D Cells and Isolated Liver Mitochondria: Molecular Mechanism (s) of the Metal/Metalloid Action.
40. Betancor M.B., Dam T.M., Walton J., Morken T., Campbell P.J., Tocher D.R. (2016). Modulation of selenium tissue distribution and selenoprotein expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with graded levels of plant ingredients. *British Journal of Nutrition*, 115(8), 1325–1338.
41. Bhagat S., Vallabani N.S., Shutthanandan V., Bowden M., Karakoti A.S., Singh S. (2018). Gold core/Ceria shell-based redox active nanozyme mimicking the biological multienzyme complex phenomenon. *Journal of colloid and interface science*, 513, 831–842.
42. Bisht S., Faiq M., Tolahunase M., Dada R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470.
43. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. Regulation of redox processes in biological systems with the participation of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway, biogenic selenium nanoparticles as Nrf2 activators. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2020, 11(4), 483–493.
44. Bityutskyy V., Tsekhmistrenko S., Tsekhmistrenko O., Melnychenko O., Kharchyshyn V. (2019). Effects of different dietary selenium sources including probiotics mixture on growth performance, feed utilization and serum biochemical profile of quails. In *Modern Development Paths of Agricultural Production* (pp. 623–632). Springer, Cham.

45. Bityutskyy V.S., Oleshko O.A., Tsekhmistrenko S.I., Melnichenko O.M., Tsekhmistrenko O.S., Melnichenko Yu.O., ... Shulko O.P. (2021). The Influence of Various Forms of Selenium on Redox Processes, Gene Expression of Selenoproteins, Antioxidant Status in Biological Objects. *Oxidants and antioxidants in medical science*, 10 (8), 5–13.
46. Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Oleshko O.A., Heiko L.M. (2020). Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. *Таврійський науковий вісник*, 114, 231–240.
47. Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Tsekhmistrenko S.I., Spyvack M.Y., Shadura U.M. (2017). Perspectives of cerium nanoparticles use in agriculture. *The Animal Biology*. 19(3), 9–17.
48. Böck A. (2001). Selenium metabolism in bacteria. In *Selenium* (pp. 7–22). Springer, Boston, MA.
49. Bollong M.J., Lee G., Coukos J.S., Yun H., Zambaldo C., Chang J.W., ... Moellering R.E. (2018). A metabolite-derived protein modification integrates glycolysis with KEAP1–NRF2 signalling. *Nature*, 562(7728), 600–604.
50. Boostani A., Sadeghi A.A., Mousavi S.N., Chamani M.Kashan N. (2015). Effects of organic, inorganic, and nano-Se on growth performance, antioxidant capacity, cellular and humoral immune responses in broiler chickens exposed to oxidative stress. *Livestock science*, 178, 330–336.
51. Brenneisen P., Seal S., Karakoti A. (2017). U.S. Patent No. 9,585,840. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
52. Bunglavan S.J., Garg A.K., Dass R.S., Shrivastava S. (2018). Effect of varied levels of selenium supplementation in nano form on growth, nutrient intake and digestibility in Wistar albino rats. *Indian Journal of Animal Research*, 52(2), 248–253.
53. Burk R.F. (1983). Biological activity of selenium. *Annu. Rev. Nutr.*, 3, 53–70.
54. Cao G.J., Jiang X., Zhang H., Croley T.R., Yin J.J. (2017). Mimicking horseradish peroxidase and oxidase using ruthenium nanomaterials. *RSC Advances*, 7(82), 52210–52217.
55. Caputo F., Mameli M., Sienkiewicz A., Licoccia S., Stellacci F., Ghibelli L., Traversa E. (2017). A novel synthetic approach of cerium oxide nanoparticles with improved biomedical activity. *Scientific reports*, 7(1), 1–13.

56. Casals E., Gusta M.F., Piella J., Casals G., Jiménez W., Puentes V. (2017). Intrinsic and extrinsic properties affecting innate immune responses to nanoparticles: the case of cerium oxide. *Frontiers in immunology*, 8, 970.

57. Celardo I., De Nicola M., Mandoli C., Pedersen J.Z., Traversa E., Ghibelli L. (2011). Ce<sup>3+</sup> ions determine redox-dependent anti-apoptotic effect of cerium oxide nanoparticles. *ACS nano*, 5(6), 4537–49.

58. Celardo I., Pedersen J.Z., Traversa E., Ghibelli L. (2011). Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles. *Nanoscale*, 3(4), 1411–1420.

59. Chan L., He L., Zhou B., Guan S., Bo M., Yang Y., Chen T. (2017). Cancer-targeted selenium nanoparticles sensitize Cancer cells to continuous  $\gamma$  radiation to achieve synergetic chemo-radiotherapy. *Chemistry–An Asian Journal*, 12(23), 3053–3060.

60. Charbgoon F., Ramezani M., Darroudi M. (2017). Bio-sensing applications of cerium oxide nanoparticles: advantages and disadvantages. *Biosensors and Bioelectronics*, 96, 33–43.

61. Chaudhry Q., Castle L. (2015). Safety assessment of nano-and microscale delivery vehicles for bioactive ingredients. *Nanotechnology and Functional Foods: Effective Delivery of Bioactive Ingredients*, 348–357.

62. Chen S., Quan Y., Yu Y.L., Wang J.H. (2017). Graphene quantum dot/silver nanoparticle hybrids with oxidase activities for antibacterial application. *ACS Biomaterials Science Engineering*, 3(3), 313–321.

63. Chen W., Chen J., Feng Y.B., Hong L., Chen Q.Y., Wu L.F., Lin X.H., Xia X.H. (2012). Peroxidase-like activity of water-soluble cupric oxide nanoparticles and its analytical application for detection of hydrogen peroxide and glucose. *Analyst*, 137(7), 1706–1712.

64. Chen Z., Yin J.J., Zhou Y.T., Zhang Y., Song L., Song M., Hu S., Gu N. (2012). Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *Acs Nano*, 6(5), 4001–4012.

65. Cheng H., Zhang L., He J., Guo W., Zhou Z., Zhang X., Hie S., Wei H. (2016). Integrated nanozymes with nanoscale proximity for in vivo neurochemical monitoring in living brains. *Analytical chemistry*, 88(10), 5489–5497.

66. Cheng Z., Zhi X., Sun G., Guo W., Huang Y., Sun W., ... Hu K. (2016). Sodium selenite suppresses hepatitis B virus transcription and

replication in human hepatoma cell lines. *Journal of medical virology*, 88(4), 653–663.

67. Choleva T.G., Gatselou V.A., Tsogas G.Z., Giokas D.L. (2018). Intrinsic peroxidase-like activity of rhodium nanoparticles, and their application to the colorimetric determination of hydrogen peroxide and glucose. *Microchimica Acta*, 185(1), 22.

68. Cîrcu M., Nan A., Borodi G., Liebscher J., Turcu R. (2016). Refinement of magnetite nanoparticles by coating with organic stabilizers. *Nanomaterials*. 6:228

69. Cormode D.P., Gao L., Koo H. (2018). Emerging Biomedical Applications of Enzyme-Like Catalytic Nanomaterials. *Trends in biotechnology*, 36(1), 15–29

70. Couto N.; Wood J.; Barber J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic. Biol. Med.*, 95, 27–42.

71. Cremonini E., Zonaro E., Donini M., Lampis S., Boaretti M., Dusi S., ... Vallini G. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: characterization, antimicrobial activity and effects on human dendritic cells and fibroblasts. *Microbial biotechnology*, 9(6), 758–771.

72. Cui M., Zhao Y., Wang C., Song Q. (2017). The oxidase-like activity of iridium nanoparticles, and their application to colorimetric determination of dissolved oxygen. *Microchimica Acta*, 184(9), 3113–19.

73. Cui Y.H., Li L.L., Zhou N.Q., Liu J.H., Huang Q., Wang H.J., ... Yu H.Q. (2016). *In vivo* synthesis of nano-selenium by *Tetrahymena thermophila* SB210. *Enzyme and microbial technology*, 95, 185–191.

74. Cullinan S.B., Gordan J.D., Jin J., Harper J.W., Diehl J.A. (2004). The Keap1–BTB protein is an adaptor that bridges Nrf2 to a Cul3–based E3 ligase: oxidative stress sensing by a Cul3–Keap1 ligase. *Molecular and cellular biology*, 24(19), 8477–86.

75. Cumming K.T., Raastad T., Sørstrøm A., Paronetto M.P., Mercatelli N., Ugelstad I., Paulsen G. (2017). Vitamin C and E supplementation does not affect heat shock proteins or endogenous antioxidants in trained skeletal muscles during 12 weeks of strength training. *BMC Nutrition*, 3(1), 70.

76. Dahle J.T., Arai Y. (2015). Environmental geochemistry of cerium: applications and toxicology of cerium oxide nanoparticles. *International journal of environmental research and public health*, 12(2), 1253–1278.

77. Dalapati R., Sakthivel B., Ghosalya M.K., Dhakshinamoorthy A., Biswas S. (2017). A cerium-based metal–organic framework having inherent oxidase-like activity applicable for colorimetric sensing of biothiols and aerobic oxidation of thiols. *CrystEngComm*, 19(39), 5915–5925.

78. Dalapati R., Sakthivel B., Ghosalya M.K., Dhakshinamoorthy A., Biswas S. (2017). A cerium-based metal-organic framework having inherent oxidase-like activity applicable for colorimetric sensing of biothiols and aerobic oxidation of thiols. *CrystEngComm*; 19(39):5915–25.

79. Das S., Dowding J.M., Klump K.E., McGinnis J.F., Self W., Seal S. (2013). Cerium oxide nanoparticles: applications and prospects in nanomedicine. *Nanomedicine*, 8(9), 1483–1508.

80. de la Vega M.R., Dodson M., Chapman E., Zhang D.D. (2016). NRF2–targeted therapeutics: New targets and modes of NRF2 regulation. *Current opinion in toxicology*, 1, 62–70.

81. Deng H.H., Lin X.L., Liu Y.H., Li K.L., Zhuang Q.Q., Peng H.P., Liu A.L., Xia X.H., Chen W. (2017). Chitosan-stabilized platinum nanoparticles as effective oxidase mimics for colorimetric detection of acid phosphatase. *Nanoscale*, 9(29), 10292–10300.

82. Deponte M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830, 3217–3266.

83. Dhall A., Burns A., Dowding J., Das S., Seal S., Self W. (2017). Characterizing the phosphatase mimetic activity of cerium oxide nanoparticles and distinguishing its active site from that for catalase mimetic activity using anionic inhibitors. *Environmental Science: Nano*, 4(8), 1742–1749.

84. Dhapte V., Pokharkar V. (2019). Nanosystems for drug delivery: Design, engineering, and applications. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 321–345. Elsevier.

85. Dimauro I., Mercatelli N., Caporossi D. (2016). Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 46–55.

86. Dobias J., Suvorova E.I., Bernier-Latmani R. (2011). Role of proteins in controlling selenium nanoparticle size. *Nanotechnology*, 22(19), 195605.

87. Dong Z., Luo Q., Liu J. (2012). Artificial enzymes based on supramolecular scaffolds. *Chemical Society Reviews*, 41(23), 7890–7908.

88. Dowding J.M., Dosani T., Kumar A., Seal S., Self W.T. (2012). Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical ( $\cdot$ NO). *Chemical communications*, 48(40), 4896–4898.

89. Dowding J.M., Seal S., Self W.T. (2013). Cerium oxide nanoparticles accelerate the decay of peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>). *Drug delivery and translational research*, 3(4), 375–379.

90. Dutta A.K., Maji S.K., Srivastava D.N., Mondal A., Biswas P., Paul P., Adhikary B. (2012). Synthesis of FeS and FeSe nanoparticles from a single source precursor: a study of their photocatalytic activity, peroxidase-like behavior, and electrochemical sensing of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *ACS applied materials interfaces*, 4(4), 1919–1927.

91. Egger A.L., Gay K.A., Mesecar A.D. (2008). Molecular mechanisms of natural products in chemoprevention: induction of cytoprotective enzymes by Nrf2. *Molecular nutrition food research*, 52(S1), S84–S94.

92. Esim O., Sarper M., Ozkan C.K., Oren S., Baykal B., Savaser A., Ozkan Y. (2020). Effect simultaneous delivery with P-glycoprotein inhibitor and nanoparticle administration of doxorubicin on cellular uptake and *in vitro* anticancer activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*.

93. Estevez A.Y., Stadler B., Erlichman J.S. (2017). In-vitro Analysis of Catalase-, Oxidase-and SOD-mimetic Activity of Commercially Available and Custom-synthesized Cerium Oxide Nanoparticles and Assessment of Neuroprotective Effects in a Hippocampal Brain Slice Model of Ischemia. *The FASEB Journal*, 31(1 Supplement), 693–5.

94. Estevez H., Garcia-Lidon J.C., Luque-Garcia J.L., Camara C. (2014). Effects of chitosan-stabilized selenium nanoparticles on cell proliferation, apoptosis and cell cycle pattern in HepG2 cells: comparison with other selenospecies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 184–193.

95. Esumi K., Takei N., Yoshimura T. (2003). Antioxidant-potentiality of gold–chitosan nanocomposites. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 32 :117–123.

96. Eswayah A.S., Smith T.J., Gardiner P.H. (2016). Microbial transformations of selenium species of relevance to bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(16), 4848–4859.

97. Etezad S.M., Khajeh K., Soudi M., Ghazvini P.T. M., Dabirmanesh B. (2009). Evidence on the presence of two distinct

enzymes responsible for the reduction of selenate and tellurite in *Bacillus* sp. STG-83. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(1), 1–6.

98. Fa M., Yang D., Gao L., Zhao R., Luo Y., Yao X. (2018). The Effect of AuNPs Modification on the Antioxidant Activity of CeO<sub>2</sub> Nanomaterials with Different Morphologies. *Applied Surface Science*.

99. Fahmy A.A., Abd El-Azim A.S., Gharib G.A. (2016). Protective effect of Q-3 fatty acids and or nano-selenium on cisplatin and ionizing radiation induced liver toxicity in rats. *Ind J Pharm Education Res*, 50(4), 649–655.

100. Faisal M., Saquib Q., Alatar A.A., Al-Khedhairi A.A., Hegazy A.K., Musarrat J. (2013). Phytotoxic hazards of NiO-nanoparticles in tomato: a study on mechanism of cell death. *Journal of hazardous materials*, 250, 318–32.

101. Fan Y., Huang Y. (2012). The effective peroxidase-like activity of chitosan-functionalized CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for chemiluminescence sensing of hydrogen peroxide and glucose. *Analyst*, 137(5), 1225–1231.

102. Fang X., Wang Y., Wang Z., Jiang Z., Dong M. (2019). Microorganism assisted synthesized nanoparticles for catalytic applications. *Energies*, 12(1), 190.

103. Farhangi-Abriz S., Torabian S. (2018). Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. *Protoplasma*, 1–10.

104. Farina M., Aschner M. (2019). Glutathione antioxidant system and methylmercury-induced neurotoxicity: an intriguing interplay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1863(12), 129285.

105. Fernandes J., Hu X., Smith M.R., Go Y.M., Jones D.P. (2018). Selenium at the redox interface of the genome, metabolome and exposome. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 215–227.

106. Ferraro D., Tredici I.G., Ghigna P., Castillio-Michel H., Falqui A., Di Benedetto C., ... Sommi P. (2017). Dependence of the Ce (III)/Ce (IV) ratio on intracellular localization in ceria nanoparticles internalized by human cells. *Nanoscale*, 9(4), 1527–1538.

107. Finley D., Prado M.A. (2020). The proteasome and its network: Engineering for adaptability. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 12(1), a033985.



108. Finley D., Ulrich H.D., Sommer T., Kaiser P. (2012). The ubiquitin–proteasome system of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 192(2), 319–360.

109. Fischer H.C., Chan W.C. (2007). Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study. *Current opinion in biotechnology*, 18(6), 565–71.

110. Forootanfar H., Adeli-Sardou M., Nikkhoo M., Mehrabani M., Amir-Heidari B., Shahverdi A.R., Shakibaie M. (2014). Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1), 75–79.

111. Fu P.P. (2014). Introduction to the special issue: nanomaterials-toxicology and medical applications. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 1–2.

112. Gao X., Li X., Mu J., Ho C.T., Su J., Zhang Y., ... Xie Y. (2020). Preparation, physicochemical characterization, and anti-proliferation of selenium nanoparticles stabilized by *Polyporus umbellatus* polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 605–615.

113. Garai-Ibabe G., Möller M., Saa L., Grinyte R. & Pavlov V. (2014). Peroxidase-mimicking DNAzyme modulated growth of CdS nanocrystalline structures in situ through redox reaction: application to development of genosensors and aptasensors. *Analytical chemistry*, 86, 10059–10064.

114. Garbisu C., Carlson D., Adamkiewicz M., Yee B.C., Wong J.H., Resto E., ... Buchanan B.B. (1999). Morphological and biochemical responses of *Bacillus subtilis* to selenite stress. *Biofactors*, 10(4), 311–319.

115. Garbisu C., Gonzalez S., Yang W.H., Yee B.C., Carlson D.L., Yee A., ... Leighton T. (1995). Physiological mechanisms regulating the conversion of selenite to elemental selenium by *Bacillus subtilis*. *BioFactors (Oxford, England)*, 5(1), 29–37.

116. García-Giménez J.L.; Romá-Mateo C.; Pérez-Machado G.; Peiró-Chova L.; Pallardó F.V. (2017). Role of glutathione in the regulation of epigenetic mechanisms in disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 112, 36–48.

117. Geibel B., Merschky M., Rether C., Schmuck C. (2012). Artificial enzyme mimics. *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*. 159

118. Ghosh S. (2006). Handbook of transcription factor NF-kappaB. CRC Press. 223 p.

119. Gil D., Rodriguez J., Ward B., Vertegel A., Ivanov V., Reukov V. (2017). Antioxidant activity of SOD and catalase conjugated with nanocrystalline ceria. *Bioengineering*, 4(1), 18.

120. Goodfellow M.J., Borcar A., Proctor J.L., Greco T., Rosenthal R.E., Fiskum G. (2020). Transcriptional activation of antioxidant gene expression by Nrf2 protects against mitochondrial dysfunction and neuronal death associated with acute and chronic neurodegeneration. *Experimental Neurology*, 328, 113247.

121. Gordon A.T., Lutz G.E., Boninger M.L., Cooper R.A. (2007). Introduction to nanotechnology: potential applications in physical medicine and rehabilitation. *American journal of physical medicine rehabilitation*, 86(3), 225–241.

122. Griffiths H.R.; Dias I.H.; Willetts R.S.; Devitt A. Redox regulation of protein damage in plasma. *Redox Biol.* 2014, 2, 430–435.

123. Grillone A., Li T., Battaglini M., Scarpellini A., Prato M., Takeoka S., Ciofani G. (2017). Preparation, characterization, and preliminary in vitro testing of nanoceria-loaded liposomes. *Nanomaterials*, 7(9), 276.

124. Grulke E., Reed K., Beck M., Huang X., Cormack A., Seal S. (2014). Nanoceria: factors affecting its pro-and anti-oxidant properties. *Environmental Science: Nano*, 1(5), 429–444.

125. Guo L., Huang K., Liu H. (2016). Biocompatibility selenium nanoparticles with an intrinsic oxidase-like activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 18(3), 74.

126. Guo Y., Wang H., Ma X., Jin J., Ji W., Wang X., Song W., Zhao B., He C. (2017). Fabrication of Ag–Cu<sub>2</sub>O/Reduced Graphene Oxide Nanocomposites as Surface-Enhanced Raman Scattering Substrates for in Situ Monitoring of Peroxidase-Like Catalytic Reaction and Biosensing. *ACS applied materials interfaces*, 9(22), 19074–19081.

127. Hadrup N., Loeschner K., Mandrup K., Ravn-Haren G., Frandsen H.L., Larsen E.H., ... Mortensen A. (2019). Subacute oral toxicity investigation of selenium nanoparticles and selenite in rats. *Drug and chemical toxicology*, 42(1), 76–83.

128. Hallan S.S., Kaur P., Kaur V., Mishra N., Vaidya B. (2016). Lipid polymer hybrid as emerging tool in nanocarriers for oral drug delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 334–49.

129. He J., Zhou L., Liu J., Yang L., Zou L., Xiang J., ... Yang X. (2017). Modulation of surface structure and catalytic properties of cerium oxide nanoparticles by thermal and microwave synthesis techniques. *Applied Surface Science*, 402, 469–477.
130. He W., Liu Y., Yuan J., Yin J.J., Wu X., Hu X., ... Guo Y. (2011). Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays. *Biomaterials*, 32(4), 1139–1147.
131. He W., Wamer W., Xia Q., Yin J.J., Fu P.P. (2014). Enzyme-like activity of nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 32(2), 186–211.
132. Heckert E.G., Seal S., Self W.T. (2008). Fenton-like reaction catalyzed by the rare earth inner transition metal cerium. *Environmental science technology*, 42(13), 5014–5019.
133. Heckert E.G., Seal S., Self W.T. (2008). Fenton-like reaction catalyzed by the rare earth inner transition metal cerium. *Environmental science technology*, 42(13), 5014–5019.
134. Held J.M. (2020). Redox Systems Biology: Harnessing the Sentinels of the Cysteine Redoxome. *Antioxidants Redox Signaling*, 32(10), 659–676.
135. Hosnedlova B., Kepinska M., Skalickova S., Fernandez C., Ruttkay-Nedecky B., Peng Q., Baron M., Melcova M., Opatrilova R., Zidkova, j., Bjørklund, G., Sochor J., Bjørklund G. (2018). Nano-selenium and its nanomedicine applications: a critical review. *International journal of nanomedicine*, 13, 2107–2128.
136. Hosseini S., Mamouei M. (2019). Assessment of Glutathione peroxidase activity in blood plasma and semen Following Nutrition by Nano-selenium supplementation in Khuzestan Arabian rams.
137. Huang B., Zhang J., Hou J., Chen C. (2003). Free radical scavenging efficiency of Nano-Se in vitro. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(7), 805–813.
138. Hunyadi A. (2019). The mechanism (s) of action of antioxidants: From scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. *Medicinal Research Reviews*, 39(6), 2505–2533.
139. Ibor O.R., Adeogun A.O., Regoli F., Arukwe A. (2019). Xenobiotic biotransformation, oxidative stress and obesogenic molecular biomarker responses in *Tilapia guineensis* from Eleyele Lake, Nigeria. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 255–265.

140. Israel L.L., Braubach O., Galstyan A., Chiechi A., Shatalova E.S., Grodzinski Z., Ding H., Black K.L., Ljubimova J.Y., Holler E. (2019). A combination of tri-Leucine and angiopep-2 drives a polyanionic poly(malic acid) nanodrug platform across the blood–brain barrier. *ACS nano*, 13(2), 1253–1271.

141. Itoh K.; Mimura J.; Yamamoto M. (2010). Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: A historical overview. *Antioxid. Redox Signal.*, 13, 1665–1678.

142. Ivanov V.K., Polezhaeva O.S., Shaporev A.S., Baranchikov A.E., Shcherbakov A.B., Usatenko A.V. (2010). Synthesis and thermal stability of nanocrystalline ceria sols stabilized by citric and polyacrylic acids. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 55(3), 328–332.

143. Janoš P., Hladík T., Kormunda M., Ederer J., Šťastný M. (2014). Thermal treatment of cerium oxide and its properties: adsorption ability versus degradation efficiency. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2014.

144. Jia H., Yang D., Han X., Cai J., Liu H., He W. (2016). Peroxidase-like activity of the Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles used for biodetection and evaluation of antioxidant behavior. *Nanoscale*, 8(11), 5938–5945.

145. Jia W., Andaya A., Leary J.A. (2012). Novel mass spectrometric method for phosphorylation quantification using cerium oxide nanoparticles and tandem mass tags. *Analytical chemistry*, 84(5), 2466–2473.

146. Jia X., Liu Q., Zou S., Xu X., Zhang L. (2015). Construction of selenium nanoparticles/ $\beta$ -glucan composites for enhancement of the antitumor activity. *Carbohydrate polymers*, 117, 434–442.

147. Jiang B., Duan D., Gao L., Zhou M., Fan K., Tang Y., Xi J., Bi Y., Tong Z., Gao G.F., Xie N., Tang A., Nie G., Liang M., Xie N. (2018). Standardized assays for determining the catalytic activity and kinetics of peroxidase-like nanozymes. *Nature protocols*, 1.

148. Jiang L., Yuan R., Chai Y., Yuan Y., Bai L., Wang Y. (2013). An ultrasensitive electrochemical aptasensor for thrombin based on the triplex-amplification of hemin/G-quadruplex horseradish peroxidase-mimicking DNAzyme and horseradish peroxidase decorated FeTe nanorods. *Analyst*, 138(5), 1497–1503.

149. Jiao X., Song H., Zhao H., Bai W., Zhang L., Lv Y. (2012). Well-redispersed ceria nanoparticles: promising peroxidase mimetics for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and glucose detection. *Analytical Methods*, 4(10), 3261–3267.

150. Jin Y., He Y., Liu L., Tao W., Wang G., Sun W., Wang M. (2021). Effects Of Supranutritional Selenium Nanoparticles On Immune And Antioxidant Capacity In Sprague-Dawley Rats. *Biological Trace Element Research*, 1–9.

151. Kachuee R., Abdi-Benemar H., Mansoori Y., Sánchez-Aparicio P., Seifdavati J., Elghandour M.M., ... Salem A.Z. (2019). Effects of sodium selenite, L-selenomethionine, and selenium nanoparticles during late pregnancy on selenium, zinc, copper, and iron concentrations in Khalkhali Goats and their kids. *Biological trace element research*, 191(2), 389–402.

152. Kaidery N.A., Ahuja M., Thomas B. (2019). Crosstalk between Nrf2 signaling and mitochondrial function in Parkinson's disease. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 101, 103413.

153. Kajita M., Hikosaka K., Iitsuka M., Kanayama A., Toshima N., Miyamoto Y. (2007). Platinum nanoparticle is a useful scavenger of superoxide anion and hydrogen peroxide. *Free radical research*. 41: 615–626.

154. Kang S., Li R., Jin H., You H.J., Ji G.E. (2020). Effects of Selenium-and Zinc-Enriched *Lactobacillus plantarum* SeZi on Antioxidant Capacities and Gut Microbiome in an ICR Mouse Model. *Antioxidants*, 9(10), 1028.

155. Kansanen E., Kuosmanen S.M., Leinonen H., Levonen A.L. (2013). The Keap1–Nrf2 pathway: mechanisms of activation and dysregulation in cancer. *Redox biology*, 1(1), 45–49.

156. Kessi J., Hanselmann K.W. (2004). Similarities between the abiotic reduction of selenite with glutathione and the dissimilatory reaction mediated by *Rhodospirillum rubrum* and *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(49), 50662–50669.

157. Keum Y., Choi B. (2014). Molecular and chemical regulation of the Keap1–Nrf2 signaling pathway. *Molecules*, 19, 10074–10089.

158. Khedri B., Shahanipour K., Fatahian S., Jafary F. (2018). Preparation of chitosan-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and assessment of their effects on enzymatic antioxidant system as well as high-density lipoprotein/low-density lipoprotein lipoproteins on wistar rat. *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)*, 2(1), 68.

159. Khoei N.S., Lampis S., Zonaro E., Yrjälä K., Bernardi P., Vallini G. (2017). Insights into selenite reduction and biogenesis of

elemental selenium nanoparticles by two environmental isolates of *Burkholderia fungorum*. *New biotechnology*, 34, 1–11.

160. Khoso P.A., Zhang Y., Yin H., Teng X., Li S. (2019). Selenium Deficiency Affects Immune Function By Influencing Selenoprotein And Cytokine Expression In Chicken Spleen. *Biological Trace Element Research*, 187(2), 506–516.

161. Khurana A., Tekula S., Saifi M.A., Venkatesh P., Godugu C. (2019). Therapeutic applications of selenium nanoparticles. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 111, 802–812.

162. Kim C.K., Kim T., Choi. I.-Y., Soh M., Kim D., Kim Y.-J., Jang H., Yang H.-S., Kim J.Y., Park H.K., Park, S. P., Park, S., Yu T., Yoon B.W., Lee S.H., Hyeon, T. (2012). Ceria nanoparticles that can protect against ischemic stroke. *Angewandte Chemie International Edition*, 51:11039–11043.

163. Kim J., Takahashi M., Shimizu T., Shirasawa T., Kajita M., Kanayama A., Miyamoto Y. (2008). Effects of a potent antioxidant, platinum nanoparticle, on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of ageing and development*, 129(6), 322–331.

164. Kim S., Viswanath A.N. I., Park J.H., Lee H.E., Park A.Y., Choi J.W., Kim H., Londhe A., Jang B., Lee J., Hwang. H., Lim S., Pae A., Park K. (2020). Nrf2 activator via interference of Nrf2–Keap1 interaction has antioxidant and anti-inflammatory properties in Parkinson's disease animal model. *Neuropharmacology*, 167, 107989.

165. Kim Y., Jang H.H. (2019). Role of Cytosolic 2–Cys Prx1 and Prx2 in Redox Signaling. *Antioxidants*, 8(6), 169.

166. Kopacz A., Kloska D., Forman H.J., Jozkowicz A., Grochot-Przeczek A. (2020). Beyond repression of Nrf2: an update on Keap1. *Free Radical Biology and Medicine*.

167. Kora A.J., Rastogi L. (2016). Bacteriogenic synthesis of selenium nanoparticles by *Escherichia coli* ATCC 35218 and its structural characterisation. *IET nanobiotechnology*, 11(2), 179–184.

168. Korsvik C., Patil S., Seal S., Self W.T. (2007). Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chemical communications*, (10), 1056–1058.

169. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. (2019). Electrophilic Signaling: The Role of Reactive Carbonyl Compounds. *Biochemistry (Moscow)*, 84(1), 206–224.

170. Kuchma M.H., Komanski C.B., Colon J., Teblum A.,

Masunov A.E., Alvarado B., Badu S., Seal S., Summy J., Baker C.H. (2010). Phosphate ester hydrolysis of biologically relevant molecules by cerium oxide nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(6), 738–744.

171. Kumar A., Kumar S.P. (2020). Biogenic selenium nanoparticles for their therapeutic application. *Asian J Pharm Clin Res*, 13(1), 4–9.

172. Kunwar A., Priyadarsini K.I. (2020). Selenium, a micronutrient can modulate viral diseases including COVID-19. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 57(6), 713–723.

173. Kuria A., Fang X., Li M., Han H., He J., Aaseth J.O., Cao Y. (2020). Does dietary intake of selenium protect against cancer? A systematic review and meta-analysis of population-based prospective studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(4), 684–694.

174. Kwon H.J., Cha M.Y., Kim D., Kim D.K., Soh M., Shin K., ... Mook-Jung I. (2016). Mitochondria-targeting ceria nanoparticles as antioxidants for Alzheimer's disease. *ACS nano*, 10(2), 2860–2870.

175. Lacourciere G.M., Stadtman T.C. (1998). The NIFS protein can function as a selenide delivery protein in the biosynthesis of selenophosphate. *Journal of Biological Chemistry*, 273(47), 30921–30926.

176. Lampis S., Zonaro E., Bertolini C., Cecconi D., Monti F., Micaroni M., ... Vallini G. (2017). Selenite biotransformation and detoxification by *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02: novel clues on the route to bacterial biogenesis of selenium nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 324, 3–14.

177. Lara H.H., Guisbiers G., Mendoza J., Mimun L.C., Vincent B.A., Lopez-Ribot J.L., Nash K.L. (2018). Synergistic antifungal effect of chitosan-stabilized selenium nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in liquids against *Candida albicans* biofilms. *International journal of nanomedicine*, 13, 2697.

178. Lee D., Xu I.M. J., Chiu D.K. C., Leibold J., Tse A.P. W., ... Chok S.H. (2019). Induction of oxidative stress through inhibition of thioredoxin reductase 1 is an effective therapeutic approach for hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 69(4), 1768–1786.

179. Lee S.S., Song W., Cho M., Puppala H.L., Nguyen P., Zhu H., Segatori L., Colvin V.L. (2013). Antioxidant Properties of Cerium Oxide Nanocrystals as a Function of Nanocrystal Diameter and Surface

Coating. *ACS Nano*, 7(11), 9693–703.

180. Li B., Li W., Tian Y., Guo S., Cao N. (2020). Selenium-Alleviated Hepatocyte Necrosis And Dna Damage In Cyclophosphamide-Treated Geese By Mitigating Oxidative Stress. *Biological Trace Element Research*, 193(2), 508–516.

181. Li H., Wang T., Wang Y., Wang S., Su P., Yang Y. (2018). Intrinsic triple-enzyme mimetic activity of  $V_6O_{13}$  nanotextiles: mechanism investigation and colorimetric and fluorescent detections. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 57 (6), 2416–2425.

182. Li J., Schiavo S., Xiangli D., Rametta G., Miglietta M.L., Oliviero M., Changwen W., Manzo S. (2018). Early ecotoxic effects of ZnO nanoparticle chronic exposure in *Mytilus galloprovincialis* revealed by transcription of apoptosis and antioxidant-related genes. *Ecotoxicology*, 1–16.

183. Li M., Zhang C. (2016).  $\gamma$ - $Fe_2O_3$  nanoparticle-facilitated bisphenol A degradation by white rot fungus. *Science bulletin*, 61(6), 468–472.

184. Li Y., Lin Z., Guo M., Xia Y., Zhao M., Wang C., ... Zhu B. (2017). Inhibitory activity of selenium nanoparticles functionalized with oseltamivir on H1N1 influenza virus. *International journal of nanomedicine*, 12, 5733–5743.

185. Li Y., Lin Z., Zhao M., Xu T., Wang C., Xia H., ... Zhu B. (2016). Multifunctional selenium nanoparticles as carriers of HSP70 siRNA to induce apoptosis of HepG2 cells. *International journal of nanomedicine*, 11, 3065.

186. Liang Y.; Lin S.L.; Wang C.W.; Yao H.D.; Zhang Z.W.; Xu S.W. (2014). Effect of selenium on selenoprotein expression in the adipose tissue of chickens. *Biol. Trace Elem. Res.*, 160, 41–48.

187. Liao W., Yu Z., Lin Z., Lei Z., Ning Z., Regenstein J.M., ... Ren J. (2015). Biofunctionalization of selenium nanoparticle with dictyophora indusiata polysaccharide and its antiproliferative activity through death-receptor and mitochondria-mediated apoptotic pathways. *Scientific reports*, 5(1), 1–13.

188. Lin S.L.; Wang C.W.; Tan S.R.; Liang Y.; Yao H.D.; Zhang Z.W.; Xu S.W. (2014). Selenium deficiency inhibits the conversion of thyroidal thyroxine (T4) to triiodothyronine (T3) in chicken thyroids. *Biol. Trace Elem. Res.*, 161, 263–271.

189. Lin Y., Ren J., Qu X. (2014). Nano-Gold as Artificial



Enzymes: Hidden Talents. *Advanced materials*, 26(25), 4200–4217.

190. Liu B., Sun Z., Huang P.J., Liu J. (2015). Hydrogen peroxide displacing DNA from nanoceria: mechanism and detection of glucose in serum. *Journal of the American Chemical Society*, 137(3), 1290–1295.

191. Liu C.H., Yu C.J., Tseng W.L. (2012). Fluorescence assay of catecholamines based on the inhibition of peroxidase-like activity of magnetite nanoparticles. *Analytica chimica acta*, 745, 143–148.

192. Liu F., Liu H., Liu R., Xiao C., Duan X., McClements D.J., Liu X. (2019). Delivery of sesamol using polyethylene-glycol-functionalized selenium nanoparticles in human liver cells in culture. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(10), 2991–2998.

193. Liu F., Ma C., Gao Y., McClements D.J. (2017). Food-grade covalent complexes and their application as nutraceutical delivery systems: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 16(1), 76–95.

194. Liu J., Wang S., Zhang Q., Li X., Xu S. (2020). Selenomethionine Alleviates Lps-Induced Chicken Myocardial Inflammation By Regulating The Mir-128–3p-P38 Mapk Axis And Oxidative Stress. *Metallomics*. 12, 54–64.

195. Liu P., Tian W., Tao S., Tillotson J., Wijeratne E.K., Gunatilaka A.L., Zhang D.D., Chapman E. (2019). Non-covalent NRF2 Activation Confers Greater Cellular Protection than Covalent Activation. *Cell chemical biology*, 26(10), 1427–1435.

196. Liu X., Wang Q., Zhao H., Zhang L., Su Y., Lv Y. (2012). BSA-templated MnO<sub>2</sub> nanoparticles as both peroxidase and oxidase mimics. *Analyst*, 137(19), 4552–4558.

197. Liu Y., He A., Tang J., Shah A.M., Jia G., Liu G., ... Zhao H. (2021). Selenium Alleviates The Negative Effect Of Heat Stress On Myogenic Differentiation Of C2c12 Cells With The Response Of Selenogenome. *Journal Of Thermal Biology*, 102874.

198. Liu Y., Jiang Z., Hou X., Xie X., Shi J., Shen J., ... Feng N. (2019). Functional lipid polymeric nanoparticles for oral drug delivery: Rapid mucus penetration and improved cell entry and cellular transport. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 21, 102075.

199. Liu Y., Wu H., Chong Y., Wamer W.G., Xia Q., Cai L., Nie Z., Fu P.P., Yin J.J. (2015). Platinum nanoparticles: efficient and stable catechol oxidase mimetics. *ACS applied materials interfaces*, 7(35), 19709–19717.

200. Lobanov A.V., Hatfield D.L., Gladyshev V.N. (2009). Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(11), 1424–1428.

201. Lopez-Heras I., Sanchez-Diaz R., Anunciação D.S., Madrid Y., Luque-García J.L., Camara C. (2014). Effect of chitosan-stabilized selenium nanoparticles on cell cycle arrest and invasiveness in hepatocarcinoma cells revealed by quantitative proteomics. *Journal of Nanomedicine Nanotechnology*, 5(5), 1.

202. Lu J., Holmgren A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic. Biol. Med.*, 66, 75–87.

203. Lu L., Wang X., Xiong C., Yao L. (2015). Recent advances in biological detection with magnetic nanoparticles as a useful tool. *Science China Chemistry*, 58(5), 793–809.

204. Lu X., Mestres G., Singh V.P., Effati P., Poon J.F., Engman L., Ott M.K. (2017). Selenium-and Tellurium-Based Antioxidants for Modulating Inflammation and Effects on Osteoblastic Activity. *Antioxidants*, 6(1), 13.

205. Luesakul U., Puthong S., Neamati N., Muangsin N. (2018). pH-responsive selenium nanoparticles stabilized by folate-chitosan delivering doxorubicin for overcoming drug-resistant cancer cells. *Carbohydrate polymers*, 181, 841–850.

206. Luo W., Li Y.S., Yuan J., Zhu L., Liu Z., Tang H., Liu S. (2010). Ultrasensitive fluorometric determination of hydrogen peroxide and glucose by using multiferroic BiFeO<sub>3</sub> nanoparticles as a catalyst. *Talanta*, 81(3), 901–907.

207. Lushchak V.I. (2015). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *The Ukrainian Biochemical Journal*, (87, № 6), 11–18.

208. Ma Q., He X. (2012). Molecular basis of electrophilic and oxidative defense: Promises and perils of Nrf2. *Pharmacol. Rev.*, 64, 1055–1081.

209. Mahmoud H.E.D., Ijiri D., Ebeid T.A. Ohtsuka A. (2016). Effects of dietary nano-selenium supplementation on growth performance, antioxidative status, and immunity in broiler chickens under thermoneutral and high ambient temperature conditions. *The Journal of Poultry Science*, 0150133.

210. Mahmoudvand H., Harandi M.F., Shakibaie M., Aflatoonian M.R., ZiaAli N., Makki M.S., Jahanbakhsh S. (2014). Scolicidal effects

of biogenic selenium nanoparticles against protoscolices of hydatid cysts. *International journal of surgery*, 12(5), 399–403.

211. Maiyo F., Singh M. (2017). Selenium nanoparticles: potential in cancer gene and drug delivery. *Nanomedicine*, 12(9), 1075–1089.

212. Mal J., Veneman W.J., Nancharaiah Y.V., van Hullebusch E.D., Peijnenburg W.J., Vijver M.G., Lens P.N. (2017). A comparison of fate and toxicity of selenite, biogenically, and chemically synthesized selenium nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) embryogenesis. *Nanotoxicology*, 11(1), 87–97.

213. Malyukin Y., Klochkov V., Maksimchuk P., Seminko V., Spivak N. (2017). Oscillations of Cerium Oxidation State Driven by Oxygen Diffusion in Colloidal Nanoceria ( $\text{CeO}_2^{-x}$ ). *Nanoscale research letters*, 12(1), 1–7.

214. Manoj D., Saravanan R., Santhanalakshmi J., Agarwal S., Gupta V.K., Boukherroub R. (2018). Towards green synthesis of monodisperse Cu nanoparticles: an efficient and high sensitive electrochemical nitrite sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 266, 873–882.

215. Mao S.Y., Lien T.F. (2017). Effects of nanosized zinc oxide and  $\gamma$ -polyglutamic acid on eggshell quality and serum parameters of aged laying hens. *Archives of animal nutrition*, 71(5), 373–383.

216. Marchiol L. (2018). Nanotechnology in agriculture: new opportunities and perspectives. *New Visions Plant Sci*, 9, 121.

217. Mathew S.T., Hammarsten O. (2016). Multiple Modes of Nrf2 Regulation and Transcriptional. *A Master Regulator of Oxidative Stress The Transcription Factor Nrf2*, 249.

218. McClements D.J., DeLoid G., Pyrgiotakis G., Shatkin J.A., Xiao H., Demokritou P. (2016). The role of the food matrix and gastrointestinal tract in the assessment of biological properties of ingested engineered nanomaterials (iENMs): State of the science and knowledge gaps. *NanoImpact*, 3, 47–57.

219. McCormack R.N., Mendez P., Barkam S., Neal C.J., Das S., Seal S. (2014). Inhibition of nanoceria's catalytic activity due to  $\text{Ce}^{3+}$  site-specific interaction with phosphate ions. *The Journal of Physical Chemistry C*. 118(33), 18992–19006.

220. McMahan M., Thomas N., Itoh K., Yamamoto M., Hayes J.D. (2006). Dimerization of substrate adaptors can facilitate cullin-mediated ubiquitylation of proteins by a “Tethering” mechanism a two-site

interaction model for the Nrf2–Keap1 complex. *Journal of Biological Chemistry*, 281(34), 24756–24768.

221. Mehdi Y., Hornick J.L., Istasse L., Dufrasne I. (2013). Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18(3), 3292–3311.

222. Misra B.B., Langefeld C., Olivier M., Cox L.A. (2019). Integrated omics: tools, advances and future approaches. *Journal of molecular endocrinology*, 62(1), R21–R45.

223. Mittal A.K., Kumar S., Banerjee U.C. (2014). Quercetin and gallic acid mediated synthesis of bimetallic (silver and selenium) nanoparticles and their antitumor and antimicrobial potential. *Journal of colloid and interface science*, 431, 194–199.

224. Miyazawa T., Burdeos G.C., Itaya M., Nakagawa K., Miyazawa T. (2019). Vitamin E: Regulatory Redox Interactions. *Iubmb Life*, 71, 430–441.

225. Moglianetti M., De Luca E., Pedone D., Marotta R., Catelani T., Sartori B., Amenitsch H., Retta S.F. Pompa P.P. (2016). Platinum nanozymes recover cellular ROS homeostasis in an oxidative stress-mediated disease model. *Nanoscale*, 8(6), 3739–3752.

226. Morry J., Ngamcherdtrakul W., Yantasee W. (2017). Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox biology*, 11, 240–253.

227. Mu J., Li J., Zhao X., Yang E.C., Zhao X.J. (2018). Novel urchin-like Co<sub>9</sub>S<sub>8</sub> nanomaterials with efficient intrinsic peroxidase-like activity for colorimetric sensing of copper [II] ion. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 258, 32–41.

228. Naganuma T. (2017). Shape design of cerium oxide nanoparticles for enhancement of enzyme mimetic activity in therapeutic applications. *Nano Research*, 10(1), 199–217.

229. Nancharaiah Y.V., Lens P.N. L. (2015). Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 79(1), 61–80.

230. Nasiri M., Sharifan A., Ahari H., Anvar A.A., Kakoolaki S. (2019). Food-grade nanoemulsions and their fabrication methods to increase shelf life. *Food and Health*, 2(2), 37–45.

231. Naz S., Beach J., Heckert B., Tummala T., Pashchenko O., Banerjee T., Santra S. (2017). Cerium oxide nanoparticles: a

‘radical’ approach to neurodegenerative disease treatment. *Nanomedicine*, 12(5), 545–553.

232. Nelson B.C., Johnson M.E., Walker M.L., Riley K.R., Sims C.M. (2016). Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine. *Antioxidants*, 5(2), 15.

233. Nguyen T., Sherratt P.J., Huang H.C., Yang C.S., Pickett C.B. (2003). Increased protein stability as a mechanism that enhances Nrf2-mediated transcriptional activation of the antioxidant response element Degradation of Nrf2 by the 26 S proteasome. *Journal of Biological Chemistry*, 278(7), 4536–4541.

234. Ornatska M., Sharpe E., Andreescu D., Andreescu S. (2011). Paper bioassay based on ceria nanoparticles as colorimetric probes. *Analytical chemistry*, 83(11), 4273–4280.

235. Pacitti D., Wang T., Martin S.A. M., Sweetman J., Secombes C.J. (2014). Insights into the fish thioredoxin system: Expression profile of thioredoxin and thioredoxin reductase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during infection and *in vitro* stimulation. *Developmental Comparative Immunology*, 42(2), 261–277.

236. Padmanabhan B., Tong K.I., Kobayashi A., Yamamoto M., Yokoyama S. (2008). Structural insights into the similar modes of Nrf2 transcription factor recognition by the cytoplasmic repressor Keap1. *Journal of synchrotron radiation*, 15(3), 273–276.

237. Palomo-Siguero M., Madrid Y. (2017). Exploring the behavior and metabolic transformations of SeNPs in exposed lactic acid bacteria. Effect of nanoparticles coating agent. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1712.

238. Pandey V.P., Awasthi M., Singh S., Tiwari S., Dwivedi U.N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochemistry Analytical Biochemistry*, 6(308).

239. Panieri E., Buha A., Telkoparan-Akillilar P., Cevik D., Kouretas D., Veskoukis A., Skaperda Z., Tsatsakis A., Wallace D., Suzen S., Saso L. (2020). Potential applications of NRF2 modulators in cancer therapy. *Antioxidants*, 9(3), 193.

240. Panieri E., Telkoparan-Akillilar P., Suzen S., Saso L. (2020). The NRF2/KEAP1 Axis in the Regulation of Tumor Metabolism: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Biomolecules*, 10(5), 791.

241. Panieri E.; Saso L. (2019). Potential Applications of NRF2 Inhibitors in Cancer Therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2019, 8592348.

242. Pantidos N.& Horsfall L.E. (2014). Biological synthesis of

metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 5(5), 233–242.

243. Park E.J., Choi J., Park Y.K., Park K. (2008). Oxidative stress induced by cerium oxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology*, 245(1–2), 90–100.

244. Patel R.P., Shah P., Barve K., Patel N., Gandhi J. (2019). Peyer's Patch: Targeted Drug Delivery for Therapeutics Benefits. In *Novel Drug Delivery Technologies* (pp. 121–149). Springer, Singapore.

245. Paul S., Saikia J., Samdarshi S., Konwar B. (2009). Investigation of antioxidant property of iron oxide particles by 1'-1' diphenylpicryl-hydrazyle [dpph] method. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321 :3621–3623.

246. Pezzini I., Marino A., Del Turco S., Nesti C., Doccini S., Cappello V., ... Ciofani G. (2017). Cerium oxide nanoparticles: the regenerative redox machine in bioenergetic imbalance. *Nanomedicine*, 12(4), 403–416.

247. Piacenza E., Presentato A., Zonaro E., Lemire J.A., Demeter M., Vallini G., ... Lampis S. (2017). Antimicrobial activity of biogenically produced spherical Se-nanomaterials embedded in organic material against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains on hydroxyapatite-coated surfaces. *Microbial biotechnology*, 10(4), 804–818.

248. Placha I., Takacova J., Ryzner M., Cobanova K., Laukova A., Strompfova V., ... Faix S. (2014). Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *Br. Poult. Sci.*, 55, 105–114.

249. Poon H.F., Calabrese V., Scapagnini G., Butterfield D.A. (2004). Free radicals and brain aging. *Clinics in geriatric medicine*, 20(2), 329–359.

250. Popov A.L., Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Baranchikov A.Y., Ivanov V.K. (2017). Cerium dioxide nanoparticles as third-generation enzymes [nanozymes]. *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 8(6): 760–784.

251. Prasanna S.S., Balaji K., Pandey S. & Rana S. 2019. Metal Oxide Based Nanomaterials and Their Polymer Nanocomposites. In *Nanomaterials and Polymer Nanocomposites* (pp. 123–144). Elsevier.

252. Pratsinis A., Kelesidis G.A., Zuercher S., Krumeich F., Bolisetty S., Mezzenga R., Leroux J.C. Sotiriou G.A. (2017). Enzyme-

Mimetic Antioxidant Luminescent Nanoparticles for Highly Sensitive Hydrogen Peroxide Biosensing. *ACS nano*, 11(12), 12210–12218.

253. Pruchniak M.P., Araźna M., Demkow U. (2015). Biochemistry of oxidative stress. *Advances in Clinical Science*, 9–19.

254. Qiao L., Dou X., Yan S., Zhang B., Xu C. (2020). Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 393 alleviate diquat-induced intestinal barrier dysfunction in C57BL/6 mice through their antioxidant activity. *Food Function*, 11(4), 3020–3031.

255. Rajabi S., Ramazani A., Hamidi M., Naji T. (2015). *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 20.

256. Rajeshkumar S., Ganesh L., Santhoshkumar J. (2019). Selenium nanoparticles as therapeutic agents in neurodegenerative diseases. In *Nanobiotechnology in Neurodegenerative Diseases* (pp. 209–224). Springer, Cham.

257. Rajpoot K., Jain S.K. (2020). Oral delivery of pH-responsive alginate microbeads incorporating folic acid-grafted solid lipid nanoparticles exhibits enhanced targeting effect against colorectal cancer: A dual-targeted approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 830–844.

258. Ramos D.L., Rech V.C. (2020). The interaction between physical exercise and nanoscience: a systematic review. *Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas*, 20(3), 313–323.

259. Ramya S., Shanmugasundaram T., Balagurunathan R. (2015). Biomedical potential of actinobacterially synthesized selenium nanoparticles with special reference to anti-biofilm, anti-oxidant, wound healing, cytotoxic and anti-viral activities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 30–39.

260. Regulation E.U. (2012). No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. *Official Journal of the European Union L*, 167.

261. Ren X., Zou L., Zhang X., Branco V., Wang J., Carvalho C., Holmgren A., Lu J. (2017). Redox Signaling Mediated by Thioredoxin and Glutathione Systems in the Central Nervous System. *Antioxid. Redox Signal.* 2017, 27, 989–1010.

262. Ribas V.; García-Ruiz C.; Fernández-Checa J.C. (2014). Glutathione and mitochondria. *Front. Pharm.*, 5, 151.

263. Robledinos-Antón N., Fernández-Ginés R., Manda G., Cuadrado A. (2019). Activators and Inhibitors of NRF2: A Review of Their Potential for Clinical Development. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 9372182.
264. Rubio L., Annangi B., Vila L., Hernández A., Marcos R. (2016). Antioxidant and anti-genotoxic properties of cerium oxide nanoparticles in a pulmonary-like cell system. *Archives of toxicology*, 90(2), 269–278.
265. Rubio Lorente L. (2017). In vitro studies on the biological effects of cerium oxide nanoparticles. *Universitat Autònoma de Barcelona*, 192.
266. Saadi A., Dalir-Naghadeh B., Asri-Rezaei S., Anassori E. (2020). Platelet Selenium Indices as Useful Diagnostic Surrogate for Assessment of Selenium Status in Lambs: an Experimental Comparative Study on the Efficacy of Sodium Selenite vs. Selenium Nanoparticles. *Biological Trace Element Research*, 194(2), 401–409.
267. Saikia J.P., Paul S., Konwar B.K., Samdarshi S.K. (2010). Nickel oxide nanoparticles: A novel antioxidant. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 78:146–148.
268. Saleh A.A. (2014). Effect of dietary mixture of *Aspergillus* probiotic and selenium nano-particles on growth, nutrient digestibilities, selected blood parameters and muscle fatty acid profile in broiler chickens. *Anim Sci Pap Rep*, 32, 65–79.
269. Samant R.S., Livingston C.M., Sontag E.M., and Frydman J. (2018). Distinct proteostasis circuits co-operate in nuclear and cytoplasmic protein quality control. *Nature* 563, 407–411.
270. Samuel E.L. G., Duong M.T., Bitner B.R., Marcano D.C., Tour J.M., Kent T.A. (2014). Hydrophilic carbon clusters as therapeutic, high-capacity antioxidants. *Trends in Biotechnology*, 32 :501–505.
271. Sandhir R., Yadav A., Sunkaria A., Singhal N. (2015). Nano-antioxidants: An emerging strategy for intervention against neurodegenerative conditions. *Neurochemistry international*, 89: 209–226.
272. Saranya K., Kalaiyarasan M., Rajendran N. (2019). Selenium conversion coating on AZ31 Mg alloy: A solution for improved corrosion rate and enhanced bio-adaptability. *Surface and Coatings Technology*, 378, 124902.



273. Sargent M.G. (1975). Control of cell length in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 123(1), 7–19.

274. Sarkar B., Bhattacharjee S., Daware A., Tribedi P., Krishnani K.K., Minhas P.S. (2015). Selenium nanoparticles for stress-resilient fish and livestock. *Nanoscale research letters*, 10(1), 371.

275. Sawangrat K., Yamashita S., Tanaka A., Morishita M., Kusamori K., Katsumi H., ... Yamamoto A. (2019). Modulation of intestinal transport and absorption of topotecan, a BCRP substrate, by various pharmaceutical excipients and their inhibitory mechanisms of BCRP transporter. *Journal of pharmaceutical sciences*, 108(3), 1315–25.

276. Schomburg L. (2019). The other view: the trace element selenium as a micronutrient in thyroid disease, diabetes, and beyond. *Hormones*, 1–10.

277. Schrauzer G.N. (2003). The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Advances in food and nutrition research*, 47, 73–112.

278. Schubert D., Dargusch R., Raitano J., Chan S.-W. (2006). Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective. *Biochemical and biophysical research communications*, 342: 86–91.

279. Senthil Kumaran C.K., Sugapriya S., Manivannan N., Chandar Shekar B. (2015). Effect on the growth performance of broiler chickens by selenium nanoparticles supplementation. *Nano Vision*, 5(4–6), 161–8.

280. Shah S.T., A Yehya W., Saad O., Simarani K., Chowdhury Z., A Alhadi A., Al-Ani L.A. (2017). Surface functionalization of iron oxide nanoparticles with gallic acid as potential antioxidant and antimicrobial agents. *Nanomaterials*, 7(10), 306.

281. Shah S.Z. A., Zhao D., Hussain T., Sabir N., Mangi M.H., Yang L. (2018). p62–Keap1–NRF2–ARE pathway: a contentious player for selective targeting of autophagy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in prion diseases. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 310.

282. Shakibaie M., Jafari M., Ameri A., Rahimi H.R., Forootanfar H. (2018). Biosynthesis and Physicochemical Characterization, and Cytotoxic Evaluation of Selenium Nanoparticles Produced by *Streptomyces Lavendulae* FSHJ9 Against MCF-7 Cell Line. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 17(7), 625–638.

283. Sharma D., Kanchi S., Bisetty K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian journal of chemistry*, 12(8), 3576–3600.

284. Sharma V., McDonald T., Sohn M., Anquandah G., Pettine M., Zboril R. (2017). Assessment of toxicity of selenium and cadmium selenium quantum dots: A review. *Chemosphere*, 188, 403–413.

285. Sharpe E., Andreescu D., Andreescu S. (2011). Artificial nanoparticle antioxidants. *ACS Symp. Ser.* 1083: 235–253.

286. Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Baranchikov A.E., Ryabova A.V., Ivanov V.K. (2015). Cerium fluoride nanoparticles protect cells against oxidative stress. *Materials Science and Engineering: C*, 50, 151–159.

287. Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Ivanov V.K. (2020). Biological, biomedical and pharmaceutical applications of cerium oxide. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 279–358). Elsevier.

288. Shin D.S., DiDonato M., Barondeau D.P., Hura G.L., Hitomi C., Berglund J.A., ... Tainer J.A. (2009). Superoxide dismutase from the eukaryotic thermophile *Alvinella pompejana*: structures, stability, mechanism, and insights into amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of molecular biology*, 385(5), 1534–1555.

289. Shin J.M., Lee K.M., Lee H.J., Yun J.H., Nho C.W. (2019). Physalin A regulates the Nrf2 pathway through ERK and p38 for induction of detoxifying enzymes. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 101.

290. Shirsat S., Kadam A., Naushad M., Mane R.S. (2015). Selenium nanostructures: microbial synthesis and applications. *Rsc Advances*, 5(112), 92799–92811.

291. Shokraneh M., Sadeghi A.A., Mousavi S.N., Esmaeilkhani S., Chamani M. (2020). Effects Of In Ovo Injection Of Nano-Selenium And Nano-Zinc Oxide And High Eggshell Temperature During Late Incubation On Antioxidant Activity, Thyroid And Glucocorticoid Hormones And Some Blood Metabolites In Broiler Hatchlings. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 42.

292. Sies H. Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology*; Fink G., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2019; pp. 153–163.

293. Sims C.M., Hanna S.K., Heller D.A., Horoszko C.P., Johnson M.E., Bustos A.R. M., ... Nelson B.C. (2017). Redox-active nanomaterials for nanomedicine applications. *Nanoscale*, 9(40), 15226–15251.
294. Singh J., Vishwakarma K., Ramawat N., Rai P., Singh V.K., Mishra R.K., ... And Sharma S. (2019). Nanomaterials and microbes' interactions: a contemporary overview. *3 Biotech*, 9(3), 68.
295. Singh S. (2016). Cerium oxide based nanozymes: Redox phenomenon at biointerfaces. *Biointerphases*, 11(4), 04B202.
296. Singh S. (2017). Catalytically Active Nanomaterials: Artificial Enzymes of Next Generation. *Nanosci Technol* 5(1): 1–6.
297. Singh S., Mitra K., Shukla A., Singh R., Gundampati R.K., Misra N. ... Ray B. (2016). Brominated graphene as mimetic peroxidase for sulfide ion recognition. *Analytical chemistry*, 89(1), 783–791.
298. Singh S., Singh M., Mitra K., Singh R., Gupta S.K. S., Tiwari I., Ray B. (2017). Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using brominated graphene as mimetic catalase. *Electrochimica Acta*, 258, 1435–1444.
299. Singh V.K., Chaudhary S.S., Manat T.D., Singh R.R. (2019). Effect of supplementation of different yeast forms on rumen fermentation characteristics and microbial profile in postpartum Surti buffaloes. *IJCS*, 7(5), 189–193.
300. Soares C., Branco-Neves S., de Sousa A., Azenha M., Cunha A., Pereira R., Fidalgo F. (2018). SiO<sub>2</sub> nanomaterial as a tool to improve *Hordeum vulgare* L. tolerance to nano-NiO stress. *Science of The Total Environment*, 622, 517–525.
301. Song D., Cheng Y., Li X., Wang F., Lu Z., Xiao X., Wang Y. (2017). Biogenic nanoselenium particles effectively attenuate oxidative stress-induced intestinal epithelial barrier injury by activating the Nrf2 antioxidant pathway. *ACS Applied Materials Interfaces*, 9(17), 14724–40.
302. Song Y., Zhao M., Li H., Wang X., Cheng Y., Ding L., Fan S., Chen S. (2018). Facile preparation of urchin-like NiCo<sub>2</sub>O<sub>4</sub> microspheres as oxidase mimetic for colorimetric assay of hydroquinone. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 1927–1936.
303. Sonkusre P. (2020). Specificity of Biogenic Selenium Nanoparticles for Prostate Cancer Therapy With Reduced Risk of Toxicity: An *in vitro* and *in vivo* Study. *Frontiers in Oncology*, 9, 1541.
304. Sonkusre P., Nanduri R., Gupta P., Cameotra S.S. (2014). Improved extraction of intracellular biogenic selenium nanoparticles

and their specificity for cancer chemoprevention. *Journal of Nanomedicine Nanotechnology*, 5(2), 1.

305. Srivastava N., Mukhopadhyay M. (2015). Green synthesis and structural characterization of selenium nanoparticles and assessment of their antimicrobial property. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(9), 1723–1730.

306. Stadtman T.C. (1974). Selenium Biochemistry: Proteins containing selenium are essential components of certain bacterial and mammalian enzyme systems. *Science*, 183(4128), 915–922.

307. Staurengo-Ferrari L., Badaro-Garcia S., Hohmann M.S., Manchope M.F., Zaninelli T.H., Casagrande R., Verri, Jr.W.A. (2019). Contribution of Nrf2 modulation to the mechanism of action of analgesic and anti-inflammatory drugs in pre-clinical and clinical stages. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1536.

308. Stevanović M., Filipović N., Djurdjević J., Lukić M., Boccaccini A. (2015). 45S5Bioglass®-based scaffolds coated with selenium nanoparticles or with poly (lactide-co-glycolide)/selenium particles: processing, evaluation and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 132, 208–215.

309. Stolz J.F., Basu P., Santini J.M., Oremland R.S. (2006). Arsenic and selenium in microbial metabolism. *Annu. Rev. Microbiol.*, 60, 107–130.

310. Stolz J.F., Oremland R.S. (1999). Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS microbiology reviews*, 23(5), 615–627.

311. Su L., Feng J., Zhou X., Ren C., Li H., Chen X. (2012). Colorimetric detection of urine glucose based ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles. *Analytical chemistry*, 84(13), 5753–5758.

312. Sun D., Setlow P. (1993). Cloning, nucleotide sequence, and regulation of the *Bacillus subtilis* nadB gene and a nifS-like gene, both of which are essential for NAD biosynthesis. *Journal of bacteriology*, 175(5), 1423–1432.

313. Sun L., Ding Y., Jiang Y., Liu Q. (2017). Montmorillonite-loaded ceria nanocomposites with superior peroxidase-like activity for rapid colorimetric detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239, 848–856.

314. Surai P.F, Kochish I.I., Fisinin V.I. (2018). Glutathione peroxidases in poultry biology: Part 1. Classification and mechanisms of action. *Worlds Poult. Sci. J.*, 73, 185–197.

315. Surai P.F. (2016). Antioxidant systems in Poultry Biology: Superoxide dismutase. *Anim. Nutr.*, 1, 8.
316. Surai P.F., Fisinin V.I. (2016). Vitagenes in poultry production: Part 2. Nutritional and internal stresses. *World's Poultry Science Journal*, 72(4), 761–772.
317. Surai P.F., Kochish I.I., Fisinin V.I. (2018). Glutathione peroxidases in poultry biology: Part 2. Modulation of enzymatic activities. *Worlds Poult. Sci. J.*, 73, 239–250.
318. Surai P.F., Kochish I.I., Fisinin V.I., Kidd M.T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*, 8(7), 235.
319. Szekeres M., Toth I.Y., Illes E., Hajdu A., Zupko I., Farkas K., Oszlanczi G., Tizslavicz L., Tombacz E. (2013). Chemical and colloidal stability of carboxylated core-shell magnetite nanoparticles designed for biomedical applications. *International journal of molecular sciences*, 14:14550–14574.
320. Taguchi K., Yamamoto M. (2017). The KEAP1–NRF2 system in cancer. *Frontiers in oncology*, 7, 85.
321. Tan Y., Yao R., Wang R., Wang D., Wang G., Zheng S. (2016). Reduction of selenite to Se (0) nanoparticles by filamentous bacterium *Streptomyces* sp. ES2–5 isolated from a selenium mining soil. *Microbial cell factories*, 15(1), 157.
322. Tian W., De La Vega M.R., Schmidlin C.J., Ooi A., Zhang D.D. (2018). Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) differentially regulates nuclear factor erythroid-2–related factors 1 and 2 (NRF1 and NRF2). *Journal of Biological Chemistry*, 293(6), 2029–2040.
323. Tonelli C., Chio I.I. C., Tuveson D.A. (2018). Transcriptional regulation by Nrf2. *Antioxidants redox signaling*, 29(17), 1727–1745.
324. Tong K.I., Katoh Y., Kusunoki H., Itoh K., Tanaka T., Yamamoto M. (2006). Keap1 recruits Neh2 through binding to ETGE and DLG motifs: characterization of the two-site molecular recognition model. *Molecular and cellular biology*, 26(8), 2887–2900.
325. Tong K.I., Padmanabhan B., Kobayashi A., Shang C., Hirotsu Y., Yokoyama S., Yamamoto M. (2007). Different electrostatic potentials define ETGE and DLG motifs as hinge and latch in oxidative stress response. *Molecular and cellular biology*, 27(21), 7511–7521.
326. Toth I.Y., Szekeres M., Turcu R., Saringer S., Illes E., Nesztor D., Tombacz E. (2014). Mechanism of in situ surface polymerization of

gallic acid in an environmental-inspired preparation of carboxylated core-shell magnetite nanoparticles. *Langmuir*. 30 : 15451–15461.

327. Tsai Y.Y., Oca-Cossio J., Agering K., Simpson N.E., Atkinson M.A., Wasserfall C.H., Constantinidis I., Sigmund W. (2007). Novel synthesis of cerium oxide nanoparticles for free radical scavenging. *Nanomedicine*. 2(3): 325–32.

328. Tsekhmistrenko O., Tsekhmistrenko S., Bityutskii V. (2019). Nanoscale cerium dioxide as a mimetic of antioxidant protection enzymes. Multidisciplinary conference for young researchers, 68–71.

329. Tsekhmistrenko O.S., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I. Influence of selenium compounds on histological indicators of quails in the age aspect. In Perspective directions for the development of science and practice. Abstracts of XX International Scientific and Practical Conference. Athens, Greece, 95–98.

330. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Horalskyi L.P., Tymoshok N.O., Spivak M.Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), 9–17.

331. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Melnichenko O.M., Kharchyshyn V.M., Tymoshok N.O., ... Demchenko A.A. (2020). Effects of selenium compounds and toxicant action on oxidative biomarkers in quails. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 232–239.

332. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Polishchuk V.M., Polishchuk S.A., Ponomarenko N.V., ... Spivak M.Y. (2018). Enzyme-like activity of nanomaterials. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3), 469–476

333. Tu W., Wang H., Li S., Liu Q., Sha H. (2019). The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases. *Aging and disease*, 10(3), 637–651.

334. Ungvári, É., Monori I., Megyeri A., Csiki Z., Prokisch J., Benkő I. (2014). Protective effects of meat from lambs on selenium nanoparticle supplemented diet in a mouse model of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced immunotoxicity. *Food and chemical toxicology*, 64, 298–306.

335. van Bloois E., Pazmiño D.E. T., Winter R.T., Fraaije M.W. (2010). A robust and extracellular heme-containing peroxidase from

*Thermobifida fusca* as prototype of a bacterial peroxidase superfamily. *Applied microbiology and biotechnology*, 86(5), 1419–1430.

336. Vassie J., Whitelock J., Lord M. (2017). Endocytosis of cerium oxide nanoparticles and modulation of reactive oxygen species in human ovarian and colon cancer cells. *Acta biomaterialia*, 50, 127–141.

337. Veres Z., Kim I.Y., Scholz T.D., Stadtman T.C. (1994). Selenophosphate synthetase. Enzyme properties and catalytic reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 269(14), 10597–10603.

338. Verma A.K. (2014). Anti-oxidant activities of biopolymeric nanoparticles: Boon or bane! *Journal of Pharmacy Research*, 8: 871–876.

339. Vernekar A.A., Das T., Ghosh S. & Mugesh G. (2016). A remarkably efficient  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ -based oxidase nanozyme. *Chemistry—An Asian Journal*, 11, 72–76.

340. Vineh M.B., Saboury A.A., Poostchi A.A., Rashid A.M. Parivar K. (2017). Stability and activity improvement of horseradish peroxidase by covalent immobilization on functionalized reduced graphene oxide and bio- degradation of high phenol concentration. *International journal of biological macromolecules*, 17, 32776–32779.

341. Voeikov V.L., Yablonskaya O.I. (2015). Stabilizing effects of hydrated fullerenes C60 in a wide range of concentrations on luciferase, alkaline phosphatase, and peroxidase in vitro. *Electromagnetic biology and medicine*, 34(2), 160–166.

342. Wacker M.G. (2014). Nanotherapeutics – product development along the “nanomaterial” discussion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(3), 777–784.

343. Wadhvani S.A., Shedbalkar U.U., Singh R., Chopade B.A. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: current status and future prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(6), 2555–2566.

344. Wang G., Zhang J., He X., Zhang Z., Zhao Y. (2017). Ceria nanoparticles as enzyme mimetics. *Chinese Journal of Chemistry*, 35(6), 791–800.

345. Wang H., Li S., Si Y., Zhang N., Sun Z., Wu H., Lin Y. (2014). Platinum nanocatalysts loaded on graphene oxide-dispersed carbon nanotubes with greatly enhanced peroxidase-like catalysis and electrocatalysis activities. *Nanoscale*, 6(14), 8107–8116.

346. Wang H., Zhang J., Yu H. (2007). Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(10), 1524–1533.

347. Wang J.; Liu Z.; He X.; Lian S.; Liang J.; Yu D.; Sun D.; Wu R. (2018). Selenium deficiency induces duodenal villi cell apoptosis via an oxidative stress-induced mitochondrial apoptosis pathway and an inflammatory signaling-induced death receptor pathway. *Metallomics*, 10, 1390–1400.

348. Wang K., Song J., Duan X., Mu J., Wang Y. (2017). Perovskite LaCoO<sub>3</sub> nanoparticles as enzyme mimetics: their catalytic properties, mechanism and application in dopamine biosensing. *New Journal of Chemistry*, 41(16), 8554–8560.

349. Wang M., Fu Y., Chen G., Shi Y., Li X., Zhang H., Shen Y. (2018). Fabrication and characterization of carboxymethyl chitosan and tea polyphenols coating on zein nanoparticles to encapsulate  $\beta$ -carotene by anti-solvent precipitation method. *Food hydrocolloids*, 77, 577–587.

350. Wang Q., Zhang L., Shang C., Zhang Z., Dong S. (2016). Triple-enzyme mimetic activity of nickel–palladium hollow nanoparticles and their application in colorimetric biosensing of glucose. *Chemical Communications*, 52(31), 5410–5413.

351. Wang T., Yang L., Zhang B., Liu J. (2010). Extracellular biosynthesis and transformation of selenium nanoparticles and application in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> biosensor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 80(1), 94–102.

352. Wang Z., Li Q., Chen Y., Cui B., Li Y., Besenbacher F., Dong M. (2018). The ambipolar transport behavior of WSe<sub>2</sub> transistors and its analogue circuits. *NPG Asia Materials*, 10(8), 703–712.

353. Wei H., Wang E. (2013). Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chemical Society Reviews*, 42(14), 6060–6093.

354. Wen Z., Liu W., Li X., Chen W., Liu Z., Wen J. (2019). A Protective Role of the NRF2–Keap1 Pathway in Maintaining Intestinal Barrier Function. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 1759149.

355. White S.H., Warren L.K. (2017). Submaximal exercise training, more than dietary selenium supplementation, improves antioxidant status and ameliorates exercise-induced oxidative damage to skeletal muscle in young equine athletes. *Journal of animal science*, 95(2), 657–670.

356. Woo J., Lim W. (2017). Anticancer effect of selenium. *The Ewha Medical Journal*, 40(1), 17–21.

357. Xia Y., Xia M., Zhao M., Xu T., Guo M., Wang C., Li Y., Zhu B., Liu H. (2020). Doxorubicin-loaded functionalized selenium



nanoparticles for enhanced antitumor efficacy in cervical carcinoma therapy. *Materials Science and Engineering: C*, 106, 110100.

358. Xia Y., Zhao Y., Zhang F., Chen B., Hu X., Weir M.D., Schneider A., Jia L., Gu N., Xu H.H. (2019). Iron oxide nanoparticles in liquid or powder form enhanced osteogenesis via stem cells on injectable calcium phosphate scaffold. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 21, 102069.

359. Xiao R.; Power R.F.; Mallonee D.; Routt K.; Spangler L.; Pescatore A.J.; Cantor A.H.; Ao T.; Pierce J.L.; Dawson K.A. (2012). Effects of yeast cell wall-derived mannan-oligosaccharides on jejunal gene expression in young broiler chickens. *Poult. Sci.*, 91, 1660–1669.

360. Xiao X., Song D., Cheng Y., Hu Y., Wang F., Lu Z., Wang Y. (2019). Biogenic nanoselenium particles activate Nrf2-ARE pathway by phosphorylating p38, ERK1/2, and AKT on IPEC-J2 cells. *Journal of cellular physiology*, 234(7), 11227–11234.

361. Xu C., Guo Y., Qiao L., Ma L., Cheng Y., Roman A. (2018). Biogenic synthesis of novel functionalized selenium nanoparticles by *Lactobacillus casei* ATCC 393 and its protective effects on intestinal barrier dysfunction caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Frontiers in microbiology*, 9, 1129.

362. Xu C., Qu X. (2014). Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications. *NPG Asia materials*, 6(3), e90–e90.

363. Xu J., Gong Y., Sun Y., Cai J., Liu Q., Bao J., Yang J., Zhang Z. (2019). Impact of selenium deficiency on inflammation, oxidative stress, and phagocytosis in mouse macrophages. *Biological Trace Element Research*, 1–7.

364. Xu J.X., Zhang C., Cao C.Y., Zhu S.Y., Li H., Sun Y.C., Li J.L. (2016). Dietary Selenium Status Regulates the Transcriptions of Selenoproteome and Activities of Selenoenzymes in Chicken Kidney at Low or Super-nutritional Levels. *Biol. Trace Elem. Res.*, 170, 438–448.

365. Yan X., Song Y., Wu X., Zhu C., Su X., Du D., Lin Y. (2017). Oxidase-mimicking activity of ultrathin MnO<sub>2</sub> nanosheets in colorimetric assay of acetylcholinesterase activity. *Nanoscale*, 9(6), 2317–2323.

366. Yang J., Shim S.M., Nguyen T.Q., Kim E.H., Kim K., Lim Y.T., ... Poo H. (2017). Poly- $\gamma$ -glutamic acid/chitosan nanogel greatly enhances the efficacy and heterosubtypic cross-reactivity of H1N1 pandemic influenza vaccine. *Scientific reports*, 7, 44839.

367. Yang K.T., Lin C., Huang H., Liou J., Chien C., Wu C., ... Lin E. (2008). Expressed transcripts associated with high rates of egg production in chicken ovarian follicles. *Molecular and cellular probes*, 22(1), 47–54.
368. Yang X., Zhang W., Zhao Z., Li N., Mou Z., Sun D., ... Lin Y. (2017). Quercetin loading CdSe/ZnS nanoparticles as efficient antibacterial and anticancer materials. *Journal of inorganic biochemistry*, 167, 36–48.
369. Yang Y., Mao Z., Huang W., Liu L., Li J., Li J., Wu Q. (2016). Redox enzyme-mimicking activities of CeO<sub>2</sub> nanostructures: Intrinsic influence of exposed facets. *Scientific reports*, 6, 35344.
370. Yang Y.C., Wang Y.T., Tseng W.L. (2017). Amplified peroxidase-like activity in iron oxide nanoparticles using adenosine monophosphate: Application to urinary protein sensing. *ACS applied materials interfaces*, 9(11), 10069–10077.
371. Yanhua W., Hao H., Li Y., Zhang S. (2016). Selenium-substituted hydroxyapatite nanoparticles and their *in vivo* antitumor effect on hepatocellular carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 140, 297–306.
372. Yao J., Cheng Y., Zhou M., Zhao S., Lin S., Wang X., Wu J., Li S., Wei H. (2018). ROS scavenging Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanozymes for *in vivo* anti-inflammation. *Chemical science*, 9(11), 2927–2933.
373. Yao M., McClements D.J., Xiao H. (2015). Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems. *Current opinion in food science*, 2, 14–19.
374. Yildirim S., Ozkan C., Huyut Z., Çınar A. (2019). Detection of Se, vit. E, vit. A, MDA, 8-OHdG, and CoQ10 levels and histopathological changes in heart tissue in sheep with white muscle disease. *Biological trace element research*, 188(2), 419–423.
375. Yin J., Hou Y., Yin Y., Song X. (2017). Selenium-coated nanostructured lipid carriers used for oral delivery of berberine to accomplish a synergic hypoglycemic effect. *International journal of nanomedicine*, 12, 8671.
376. Yoshida K., Hisabori T. (2016). Two distinct redox cascades cooperatively regulate chloroplast functions and sustain plant viability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(27), E3967–E3976.
377. Yu Q., Boyanov M.I., Liu J., Kemner K.M., Fein J.B. (2018). Adsorption of selenite onto *Bacillus subtilis*: the overlooked role of cell

envelope sulfhydryl sites in the microbial conversion of Se (IV). *Environmental science technology*, 52(18), 10400–10407.

378. Yuan J., Palioura S., Salazar J.C., Su D., O'Donoghue P.,... Söll D. (2006). RNA-dependent conversion of phosphoserine forms selenocysteine in eukaryotes and archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(50), 18923–18927.

379. Zakharia Y., Bhattacharya A., Rustum Y.M. (2018). Selenium targets resistance biomarkers enhancing efficacy while reducing toxicity of anti-cancer drugs: Preclinical and clinical development. *Oncotarget*, 9(12), 10765.

380. Zenkov N.K., Menshchikova E.B., Tkachev V.O. (2013). Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system as a pharmacological target. *Biochemistry (Moscow)*, 78(1), 19–36.

381. Zhai X., Zhang C., Zhao G., Stoll S., Ren F., Leng X. (2017). Antioxidant capacities of the selenium nanoparticles stabilized by chitosan. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), 4.

382. Zhang M.; An C.; Gao Y.; Leak R.K.; Chen J.; Zhang F. (2013). Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection. *Prog. Neurobiol.*, 100, 30–47.

383. Zhang X., Feng Y.J., Li J., Hao J.H., Zhu P., Xu D.X., ... Wang H. (2021). Maternal selenium deficiency during gestation is positively associated with the risks for LBW and SGA newborns in a Chinese population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1–7.

384. Zhang X., He S., Chen Z., Huang Y. (2013). CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as oxidase mimic-mediated chemiluminescence of aqueous luminol for sulfite in white wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(4), 840–847.

385. Zhang Z., Zhang X., Liu B., Liu J. (2017). Molecular imprinting on inorganic nanozymes for hundred-fold enzyme specificity. *Journal of the American Chemical Society*, 139(15), 5412–19.

386. Zhao J., Dong W., Zhang X., Chai H., Huang Y. (2018). FeNPs@Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hollow nanocages hybrids as effective peroxidase mimics for glucose biosensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*.

387. Zhao M., Huang J., Zhou Y., Pan X., He H., Ye Z., Pan X. (2013). Controlled synthesis of spinel ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> decorated ZnO heterostructures as peroxidase mimetics for enhanced colorimetric biosensing. *Chemical Communications*, 49(69), 7656–7658.

388. Zhao X.; Yao H.; Fan R.; Zhang Z.; Xu S. (2014). Selenium deficiency influences nitric oxide and selenoproteins in pancreas of chickens. *Biol. Trace Elem. Res.*, 161, 341–349.

389. Zheng F., Li H. (2019). Evaluation of Nrf2 with exposure to nanoparticles. In *Nanotoxicity* (pp. 229–246). Humana Press, New York, NY.

390. Zheng W., Zou H.F., Lv S.W., Lin Y.H., Wang M., Yan F., Sheng Y., Song Y. H., Chen J., Zheng K.Y. (2017). The effect of nano-TiO<sub>2</sub> photocatalysis on the antioxidant activities of Cu, Zn-SOD at physiological pH. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 174, 251–260.

391. Zholobak N.M., Shcherbakov A.B., Bogorad-Kobelska A.S., Ivanova O.S., Baranchikov A.Y., Spivak N.Y., Ivanov V.K. (2014). Panthenol-stabilized cerium dioxide nanoparticles for cosmeceutic formulations against ROS-induced and UV-induced damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 130, 102–108.

392. Zhu A., Sun K., Petty H. (2012). Titanium doping reduces superoxide dismutase activity, but not oxidase activity, of catalytic CeO<sub>2</sub> nanoparticles. *Inorg Chem. Commun.* 15:235–7.

393. Zhu A., Sun K., Petty H.R. (2012). Titanium doping reduces superoxide dismutase activity, but not oxidase activity, of catalytic CeO<sub>2</sub> nanoparticles. *Inorganic chemistry communications*, 15, 235–237.

394. Zinicovscaia I., Chiriac T., Cepoi L., Rudi L., Culicov O., Frontasyeva M., Rudic V. (2017). Selenium uptake and assessment of the biochemical changes in *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomass during the synthesis of selenium nanoparticles. *Canadian journal of microbiology*, 63(1), 27–34.