

РОЗДІЛ 1 ЕКОЛОГІЯ

УДК 504:599.04.05

DOI <https://doi.org/10.32782/2786-5681-2023-4.01>

Олександр МУДРАК

доктор сільськогосподарських наук, професор, завідувач кафедри екології, природничих та математичних наук, Коштовний заклад вищої освіти «Вінницька академія безперервної освіти»
ov_mudrak@ukr.net

ORCID: 0000-0002-1776-6120

Олександр МАЄВСЬКИЙ

доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної медицини, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка
maevskyalex8@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9128-1033

Алла ПАРФЕНЮК

доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу агробіоресурсів та екологічно безпечних технологій, Інститут агроекології і природокористування Національної академії аграрних наук України
vereskspar@ukr.net

ORCID: 0000-0003-0169-4262

Євгенія ТКАЧ

доктор біологічних наук, старший дослідник, заступник завідувача відділу агроекології і біобезпеки, Інститут агроекології і природокористування Національної академії аграрних наук України
bio_eso@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0666-1956

Ольга ТЕРТИЧНА

доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії екології тваринництва відділу агробіоресурсів та екологічно безпечних технологій, Інститут агроекології і природокористування Національної академії аграрних наук України
olyater@ukr.net

ORCID: 0000-0002-9514-2858

ЕКОЛОГО-БІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПОРУШЕННЯ ГОМЕОСТАЗУ ОРГАНІЗМУ ССАВЦІВ В УМОВАХ ДІЇ ОТРУТИ *VIPERA BERUS BERUS* ТА *VIPERA BERUS NIKOLSKII*

Анотація. Вивчення еколого-біологічних аспектів порушення гомеостазу організму ссавців в умовах дії отрути плазунів мають значний вплив на утворення і перебіг різних форм зв'язків у екосистемах. Вона є важливим біотичним чинником середовища та виконує декілька екологічних функцій. Вченими встановлено, що найкраще вивченими отруйними тваринами є змії, де з понад 3800 різних видів яких дуже отруйними є лише певна кількість. Родина Гадюкові (*Viperidae*) нараховує 101 вид отруйних змій. В Європі *Vipera ammodytes*, *Vipera aspis*, *Vipera berus*, *Vipera latastei*, *Vipera seoanei* та *Vipera ursinii* є найнебезпечнішими видами, їхні укуси викликають важкі отруєння. В Україні рід *Vipera* представлений гадюкою степовою (*Vipera renardi* (Cristoph, 1861)) та двома підвидами гадюки звичайної (*Vipera berus* (Linnaeus, 1758)) – *Vipera berus berus* і гадюкою Нікольського (*Vipera berus nikolskii*, Vedmederja Grubant et Rudaeva, 1986). Тому вивчення еколого-біологічних аспектів порушення гомеостазу організму ссавців в умовах дії отрути гадюки звичайної і гадюки Нікольського в межах нашої країни є складним і багатограним процесом, що охоплює різні наукові напрями. Наразі залишаються відкритими механізми ураження різних органів і систем тварин і людини під дією специфічних компонентів їх токсинів.

Тому дослідження механізмів дії отрути гадюк, а також розробка і впровадження комплексу заходів щодо зменшення негативного впливу їхньої отрути на організм ссавців залишаються актуальними. Мета дослідження – виявити ознаки ураження тонкої кишки щурів за умов дії отрути гадюки звичайної (*Vipera berus*) і Нікольського (*Vipera berus nikolskii*). Експеримент проводили на 20 білих щурах-самцях. Під час дослідження щурів їх розділили на дві групи – контрольну і дослідну. Отруєння моделювали введенням отрути гадюки звичайної і Нікольського щурам дослідної групи внутрішньочеревно в дозі ЕД₅₀ 0,972 мг/г. Гістологічні препарати досліджували на світловому мікроскопі SEO SCAN, обробку знімків проводили за допомогою камери Vision CCD з наявною системою виведення зображень на монітор комп'ютера. У ході дослідження встановлено, що важка інтоксикація організму отрутою *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* викликає обширні деструктивно-дистрофічні зміни у стінці порожнього кишкового тракту, поряд зі значними стромально-судинними порушеннями. Отруйні гемотоксини підвищують проникність судинної стінки, змінюючи процеси внутрішньосудинного згортання крові, що призводить до дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (синдром ДВС) і незворотної дегенерації структур тонкої кишки в експерименті.

Ключові слова: екосистеми, біотичний чинник, гадюки, тонкий кишечник, токсини, структурні зміни.

Oleksandr MUDRAK

Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Head of the Department of Ecology, Natural and Mathematical Sciences, Public Higher Educational Establishment "Vinnytsia Academy of Continuing Education"

ov_mudrak@ukr.net

ORCID: 0000-0002-1776-6120

Oleksandr MAIEVSKYI

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Medicine, Educational and Scientific Center "Institute of Biology and Medicine" of Taras Shevchenko National University of Kyiv

maevskyalex8@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9128-1033

Alla PARFENYUK

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Agricultural Resources and Environmentally Friendly Technologies, Institute of Agroecology and Environmental Management of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

vereskpar@ukr.net

ORCID: 0000-0003-0169-4262

Yeuheniia TKACH

Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Deputy Head of the Department of Agricultural Resources and Environmentally Friendly Technologies, Institute of Agroecology and Environmental Management of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

bio_eco@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0666-1956

Olga TERTYCHNA

Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of Labor of Animal Production Ecology of the Department of Agricultural Resources and Environmentally Friendly Technologies, Institute of Agroecology and Environmental Management of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

olyater@ukr.net

ORCID: 0000-0002-9514-2858

ECOLOGICAL AND BIOLOGICAL ASPECTS OF DISRUPTION OF THE HOMEOSTASIS OF THE MAMMALIAN ORGANISM UNDER THE CONDITIONS OF ACTION OF *VIPERA BERUS BERUS* AND *VIPERA BERUS NIKOLSKII* VENOM

Abstract. *The study of the ecological and biological aspects of the violation of the homeostasis of the mammalian organism under the influence of reptile poison has a significant impact on the formation and course of various forms of*

connections in ecosystems. It is an important biotic factor of the environment and performs several ecological functions. Scientists have found that the best-studied poisonous animals are snakes, of which, out of more than 3.800 different species, only a certain number are highly poisonous. The Viperidae family (Viperidae) includes 101 species of poisonous snakes. In Europe *Vipera ammodytes*, *Vipera aspis*, *Vipera berus*, *Vipera latastei*, *Vipera seoanei* and *Vipera ursinii* are the most dangerous species, their bites cause severe poisoning. In Ukraine, the genus *Vipera* is represented by the steppe viper (*Vipera renardi* (Cristoph, 1861)) and two subspecies of the common viper (*Vipera berus* (Linnaeus, 1758)) – *Vipera berus berus* and *Nikolsky's viper* (*Vipera berus nikolskii*, Vedmederja Grubant et Rudaeva, 1986). Therefore, the study of the ecological and biological aspects of the violation of the homeostasis of the mammalian organism under the conditions of the action of the poison of the common viper and *Nikolsky's viper* within the borders of our country is a complex and multifaceted process that covers different scientific directions. Currently, the mechanisms of damage to various organs and systems of animals and humans under the action of specific components of their toxins remain open. Therefore, the study of the mechanisms of action of viper venom, as well as the development and implementation of a set of measures to reduce the negative impact of their venom on the body of mammals, remain relevant. The purpose of the research is to identify signs of damage to the small intestine of rats under the conditions of the action of viper (*Vipera berus*) and *Nikolskii* (*Vipera berus nikolskii*) venom. The experiment was conducted on 20 white male rats. When studying rats, they were divided into two groups – control and experimental. Poisoning was modeled by intraperitoneal administration of common viper and *Nikolsky's viper* venom to experimental group rats at a dose of ED50 of 0.972 µg/g. Histological preparations were examined on a SEO SCAN light microscope, images were processed using a Vision CCD camera with an available system for displaying images on a computer monitor. When examined, it was found that severe intoxication of the body with the venom of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* causes extensive destructive-dystrophic changes in the wall of the empty intestine, along with significant stromal-vascular disorders. Venomous hemotoxins increase the permeability of the vascular wall, altering the processes of intravascular coagulation, which leads to disseminated intravascular coagulation (DIC syndrome) and irreversible degeneration of the structures of the small intestine in the experiment.

Key words: ecosystems, biotic factor, vipers, small intestine, toxins, structural changes.

Постановка проблеми. Біотичне середовище організму створюють усі наявні організми, які безпосередньо з ним взаємодіють, а біотичні чинники – це різні види впливу, що проявляються внаслідок різноманітних форм взаємозв'язків організмів у цьому середовищі. Тому біотичні чинники є сукупністю взаємовпливів організмів у процесі їхньої життєдіяльності. Серед біотичних чинників, які впливають на гомеостаз організму ссавців, важлива роль належить токсинам отруту. Їх виробляє велика кількість живих істот (тварин, рослин, мікроорганізмів) у процесі своєї життєдіяльності. Це допомагає їм захопити здобич, захиститися від хижаків, зберегти своє середовище існування (оселище) тощо. Адже внаслідок отруєння вражаються основні фізіологічні системи жертви, тобто порушується гомеостаз її організму. Тому вивчення еколого-біологічних аспектів порушення гомеостазу організму ссавців в умовах дії отрути тварин мають значний вплив на утворення і перебіг форм взаємозв'язків для різних видів екосистем. Вона є вагомим біотичним чинником середовища і виконує важливі екологічні функції. За оцінками вчених, 220 000 видів хребетних і безхребетних тварин на нашій планеті є отруйними. Це становить 15% світового біорізноманіття. Науковцями доведено, що токсини тварин – це складні суміші біологічно активних речовин, головним чином білків, пептидів і солей, патологічний вплив яких може порушувати життєді-

яльність живих організмів і навіть спричинити їх летальний наслідок. З отруйних змій на території України поширені лише гадюки. Вид Гадюка звичайна – *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) трапляється у всіх регіонах нашої держави. Герпетофауна України представлена двома з чотирьох її підвидів: номінативним підвидом *Vipera berus berus* та гадюкою Нікольського (*Vipera berus nikolskii* Vedmederja Grubant et Rudaeva, 1986). Нині компонентний склад отрути гадюк вивчений значно краще порівняно з рештою отруйних тварин. Однак ще не всі мішені токсинів гадюк ідентифіковано, і не всі механізми, що лежать в основі ураження токсинами органів та систем тварин і людини, зрозумілі. Ця особливість дуже важлива для ефективного лікування отруєнь, що залишається нині серйозною проблемою. Висока вибірковість і ефективність цих токсинів робить їх цінними для фундаментальних досліджень. Крім того, токсини з відомими механізмами дії можуть бути джерелом для розробки ліків. Усе це свідчить, що вивчення механізмів дії отрути гадюк та їх токсинів є дуже складним і важливим завданням. Тому дослідження механізмів дії отрути гадюк *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*, розробка і впровадження комплексу заходів щодо зменшення негативного впливу їхньої отрути на організм ссавців залишаються актуальними. Отже, вивчення еколого-біологічних аспектів порушення гомеостазу організму ссавців в умовах дії отрути цих гадюк є склад-

ним і багатогранним процесом, який охоплює різні наукові напрями: екології, біології, токсикології, фармакології, патофізіології, патоморфології. Для цього необхідно використовувати відповідні наукові методи дослідження (екологічні, біохімічні, анатомо-морфологічні, фізіологічні та інші) [18–19].

Мета дослідження – визначити еколого-біологічні аспекти порушення гомеостазу організму ссавців (щурів) в умовах дії отрути гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*.

Об'єкт дослідження – особливості пошкоджень і пристосувальних змін стінки тонкої кишки ссавців (щурів) після впливу на їхній організм отрути гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*.

Аналіз джерел та останніх досліджень.

Серед основної маси компонентів отрути гадюк найбільш значна частка належить різним ферментам. З усіх ферментів на фосфоліпазу A2 припадає близько 65% сухої маси, а на серинові протеази – 19%. Отрута гадюк містить дві гетеродимерні фосфоліпази A2. Вони відрізняються кінетикою каталітичного гідролізу. Механізм токсичної дії цих гетеродимерів ще не з'ясований [1–4]. Однак фосфоліпаза A2 містить каталітично активну субодиницю β і неактивну субодиницю α . Дія ферменту на біліпідний шар клітинної мембрани викликає її агрегацію. Компоненти отрути гадюки мають переважно гемотоксичну дію завдяки широкому спектру ферментів з родини металопротеїназ, серинових протеаз, оксидаз L-амінокислот і лектиноподібних білків C-типу, що призводить до підвищення згортання крові. Оксидази L-амінокислот блокують передачу нервово-м'язевих імпульсів і руйнують клітинні мембрани. Отрута також містить кілька білків, які мають нейротоксичну дію. Серед них CRP (cysteine-rich proteins), що блокує передачу нервових імпульсів, і фосфоліпаза A2, яка має нейро-, міо-, цито- та гемотоксичну дію. Гемотоксини в такому випадку поділяють на чинники, що активують згортання крові, антикоагулянти, інгібітори та активатори тромбоцитів, агенти, що викликають фібриноліз. Білки першої групи впливають на чинники згортання крові. Антикоагулянтні гемотоксини включають серинові протеази, фосфоліпазу A2 та активатори протеїну C. Протеїни, що активують тромбоцити, мають переважно лектиноподібну

природу [5–11]. Дезінтегрини і металопротеїнази є дезактиваторами тромбоцитів. Наявна також група так званих геморагінів – цитолізінів, які пошкоджують стінку кровоносних судин і викликають крововиливи [12–15].

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проводився за міжнародними рекомендаціями щодо проведення біомедичних досліджень на тваринах [16]. Ці настанови включали «Загальні принципи поводження з тваринами», прийняті I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і «Європейську конвенцію про захист хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986). Комісія з біоетики ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ імені Тараса Шевченка засвідчила відповідність експерименту етичним принципам (протокол № 2 затверджено 19 серпня 2021 р.). Під час дослідження щури утримувались окремо в умовах віварію і отримували стандартну дієту. Перед прийомом досліджуваних речовин щурів акліматизували в експериментальній кімнаті не менше п'яти днів. Щурів у дослідженні розділили на дві групи. Перша група отримувала внутрішньочеревно фізіологічний розчин 0,5 мл. Другій групі вводили отруту гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* в дозі ED₅₀ 0,972 мкг/г шляхом внутрішньочеревної ін'єкції. Неочищена ліофілізована отрута *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* була отримана з Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, яка зберігалася за температури -20°C і безпосередньо перед дослідом розчинялася у фізіологічному розчині. Розчин центрифугували за 10 000 g упродовж 15 хвилин, а супернатант використовували в дослідженні. Через добу щурів вивели з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію та декапітації. Усіх тварин обох груп попередньо зважували. Згодом тварин розтинали, макроскопічно досліджували та описували всі внутрішні органи. Виявлені патологічні зміни реєстрували і досліджували морфологічно. Для мікроскопічного дослідження були взяті фрагменти тонкої кишки. Фрагменти фіксували в 10% розчині формаліну, час витримки не перевищував 1–2 доби. Для запобігання автолізу та підготовки клітин і тканин до фарбування наносили фіксуючий розчин, який їх стабілізував. Після цього фрагменти зневоднювали в зростаючих концентра-

ціях спирту, а потім заливали в парафінові блоки. Отримані зрізи мали товщину 4–5 мкм і фарбували гематоксиліном і еозином. Гістологічні препарати досліджували за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN, обробку зображень проводили за допомогою камери Vision CCD. Оброблені зображення виводили на монітор комп'ютера [17; 20–21].

Виклад основного матеріалу (визначення загальної протеолітичної активності). Загальну активність протеїназу у зразках аналізували методом визначення казеїнолітичної активності з наступними модифікаціями. 500 мкл гомогенату тканин доводили 0,05 М (рН 7,4) фосфатним буфером до об'єму 1 мл [22]. Перемішували і додавали 1 мл 4% казеїну. Далі інкубували впродовж 30 хв. у термостаті за +37°C. Реакцію зупиняли додаванням 3 мл 15% ТХО з наступним центрифугуванням при 2000 об/хв впродовж 30 хв. Надосадову рідину відбирали і визначали екстинцію за довжини хвилі 280 нм. Контрольний зразок складався із суміші казеїну, відповідного фосфатного буфера і ТХО в ідентичних співвідношеннях. Казеїнолітичні одиниці обчислювали за формулою:

$$K.o/1mg.bilka = \Delta E_{280} \times K/A, \quad (1)$$

де ΔE – Е холостої проби – Е досліджуваної проби; K – 1,3;

A – кількість білка в пробі (мг).

% інгібування визначали за формулою:

$$[1 - (E_2 / E_1)] \times 100\%, \quad (2)$$

де E_2 – значення оптичної щільності проби за присутності інгібітора;

E_1 – значення оптичної щільності проби без інгібітора.

Для приготування 4% казеїну наважку реактиву масою 4 г розчиняли в 80 мл 0,05 М фосфатного буфера рН 7,4 і 1,6 мл 1 М NaOH. Суміш залишали за кімнатної температури на 40 хв. для набухання. Після чого кип'ятили 15 хвилин на водяній бані. Після охолоджували, рН розчину казеїну доводили до 7,4 1 М NaOH та доводили об'єм до 100 мл фосфатним буфером (таблиця 1).

Таблиця 1

**Протеолітична активність
у досліджуваному органі (M±m, n=10)**

К.о./г	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
Загальна	5,67±0,04	9,41±0,03*	11,04±0,02*

* – $p < 0,05$ достовірно відносно контролю

Загальна протеолітична активність в органі – це міра загальної здатності протеолітичних ферментів, які знаходяться в ньому, розщеплювати білковий склад органа, при цьому можуть як ініціюватись, так і інгібуватись певні біохімічні процеси в цьому органі, залежно від наявності продуктів деградації білків під дією протеаз. За результатами експерименту, наведеними у таблиці 1, відзначаємо, що за дії обох досліджуваних отрут змій протеолітична активність збільшується в кишечнику щурів (в 1,7 раза для отрути *Vipera berus berus* та в 1,9 раза для отрути *Vipera berus nikolskii*). Це може бути пов'язано зі змінами у складі та активності протеаз у цій тканині, а також зі змінами в концентрації їх інгібіторів/активаторів. Ці зміни пов'язані з молекулами, що знаходяться в досліджуваних отрутах, та можуть запускати певні біохімічні процеси, що і призводять до підвищення загальної протеолітичної активності.

Визначення вмісту матричних металопротеїназу у гомогенатах органів щурів. Визначення вмісту матричних металопротеїназу у гомогенатах тканин здійснювали з допомогою методу імуноферментного аналізу у 96-лункових мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних білків [23]. Антиген розводили за допомогою 0,05 М Трис-HCl-буфері, рН 7,4 до концентрації 1 мкг/мл та інкубували в лунках планшетів за 4°C упродовж ночі. Після інкубації для видалення антигену, що не зв'язався, лунки промивали буфером для іммобілізації. Блокування неспецифічних місць зв'язування проводили шляхом інкубації з 5% розчином знежиреного молока впродовж однієї години за 37°C. Після інкубації лунки відмивали робочим буфером із вмістом 0,1% Tween-20 та інкубували з розчином первинних антитіл для матричних металопротеїназу, розведення яких було 1:3000 впродовж однієї години за 37°C. Надалі проводили відмивку робочим буфером з 0,1% вмістом Tween-20 та інкубували з вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому (розведення 1:3000) впродовж однієї години за 37°C. Після закінчення інкубації лунки знову відмивали буфером із вмістом 0,1% Tween-20 та інкубували із субстратом о-фенілендіаміну (OPD) концентрацією 0,4 мг/мл, розведеному у 0,05М фосфатно-цитратному буфері з додаванням 30% H_2O_2 для візуалізації зв'язування вторинних антитіл. Пероксидазну реакцію зупиняли шляхом додавання 100 мкл

1 M H₂SO₄ через 10 хв. Оптичне поглинання вимірювали за довжини хвилі 492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі (табл. 2).

Висновки. Отримані експериментальні дані вказують на те, що досліджувані отрути змій пев-

Таблиця 2

Вміст метало-матричних протеїназ у досліджуваному органі (M±m, n=10)

у.о./г	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
ММР-1	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,01*	0,19 ± 0,01*
ММР-2	0,14 ± 0,02	0,19 ± 0,01*	0,22 ± 0,02*
ММР-3	0,17 ± 0,01	0,23 ± 0,02*	0,26 ± 0,03*
ММР-10	0,18 ± 0,02	0,23 ± 0,02*	0,27 ± 0,03*
ММР-8	0,15 ± 0,01	0,22 ± 0,03*	0,25 ± 0,02*

* – p < 0,05 достовірно відносно контролю

ним чином впливають на параметри протеолітичних процесів у кишечнику щурів, які пов'язані з функціонуванням метало-матричних протеїназ.

Зокрема, встановлено збільшення вмісту ММР-1, ММР-2, ММР-3, ММР-8 та ММР-10 в кишечнику щурів за умов введення досліджуваних отрут змій *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* порівняно з контрольною групою. Збільшення вмісту ММР-1, ММР-2, ММР-10, які відповідають за руйнування колагену та інших компонентів екстрацелюлярної матриці та ММР-3 і ММР-8, що відповідають за руйнування глікопротеїнів та інших компонентів тканини, свідчить про потенційне підвищення активності цих метало-матричних протеаз. Збільшення активності цих ММР може призвести до зменшення стійкості тканини кишечника до руйнування та збільшення ризику травмування під дією різних чинників. Таким чином, введення отрути досліджуваних змій спричиняє зміни вмісту метало-матричних протеїназ у кишечнику ссавців, що може мати негативний вплив на його функціональний стан і структуру тканини.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфо-функціональні методи досліджень у нормі та при патології : навчальний посібник. Житомир : «Полісся», 2005. 288 с.
2. Добреля Н.В., Бойцова Л.В., Данова І.В. Правова база для проведення етичної експертизи доклінічних досліджень лікарських засобів з використанням лабораторних тварин. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 2. С. 95–100.
3. Мудрак О.В., Маєвський О.С., Парфенюк А.І., Ткач Є.Д., Тертична О.В. Еколого-біологічне значення дії отрути гадюк на гомеостаз ссавців. *Агроєкологічний журнал*. 2023. № 1. С. 76–83. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.1.2023.276730>.
4. Мудрак О.В., Слепцова І.В. Особливості впливу біотичних чинників середовища на організм ссавців. *Агроєкологічний журнал*. 2022. № 3. С. 160–166. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2022.266421>.
5. Alekseeva A.S., Tretiakova D.S., Chernikov V.P. et al. Heterodimeric *Vipera nikolskii* phospholipases A2 induce aggregation of the lipid bilayer. *Toxicon*. 2017. Vol. 133. P. 169–179. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.05.015>.
6. Amazonas D.R., Portes-Junior J.A., Nishiyama-Jr M.Y. et al. Molecular mechanisms underlying intraspecific variation in snake venom. *J Proteomics*. 2018. Vol. 181. P. 60–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.03.032>.
7. Cesar P.H.S., Braga M.A., Trento M.V.C. et al. Snake Venom Disintegrins: An Overview of their Interaction with Integrins. *Curr Drug Targets*. 2019. Vol. 20 (4). P. 465–477. DOI: <https://doi.org/10.2174/13894501196661022154737>.
8. Crowther J.R. The ELISA guidebook. *Methods in Molecular Biology*. 2000. Vol 149. Ch. III–IV. P. 1–413.
9. Czajka U., Wiatrzyk A. and Lutynska A. Mechanism of *Vipera berus* venom activity and the principles of antivenom administration in treatment. *Przegl Epidemiol*. 2013. Vol. 67 (4). P. 641–646.
10. Dyachenko I.A., Murashev A.N., Andreeva T.V. et al. Analysis of nociceptive effects of neurotoxic phospholipase A2 from *Vipera nikolskii* venom in mice. *J Venom Res*. 2013. Vol. P. 1–4.
11. Er O., Eksin H.M., Göcmen B. Ayşe Nalbantsoy. et al. Investigation of *Vipera Anatolica* Venom Disintegrin via Intacellular Uptake with Radiolabeling Study and Cell-Based Electrochemical Biosensing Assay. *Appl Biochem Biotechnol*. 2019. Vol. 187 (4). P. 1539–1550. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2872-6>.
12. Hadar G., Kelmer E., Segev G. et al. Protein C activity in dogs envenomed by *Vipera palaestinae*. *Toxicon*. 2014. Vol. 87. P. 38–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.05.010>.
13. Hummel B. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1956. Vol. 37. P. 1393–1995.
14. Kryukova E.V., Potapenko A.S., Andreeva T.V. et al. Dimeric Disintegrins from the Steppe Viper *V. ursinii* Venom. *Doll Biochem Biophys*. 2019. Vol. 488 (1). P. 338–341. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1607672919050132>.
15. Latinović Z., Leonardi A., Koh C.Y. et al. The Procoagulant Snake Venom Serine Protease Potentially Having a Dual, Blood Coagulation Factor V and X-Activating Activity. *Toxins (Basel)*. 2020. Vol. 12(6). P. 358. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12060358>.
16. Latinović Z., Leonardi A., Jernej Šribar J. et al. Venomics of *Vipera berus* to explain differences in pathology elicited by *Vipera ammodytes ammodytes* envenomation: Therapeutic implications. *J Proteomics*. 2016. Vol. 146. P. 34–47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.06.020>.

17. Long C., Liu M., Tian H. et al. Potential Role of Platelet-Activating C-Type Lectin-Like Proteins in Viper Envenomation Induced Thrombotic Microangiopathy Symptom. *Toxins (Basel)*. 2020. Vol. 12 (12). P. 749. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12120749>.
18. Palamarchuk M., Bobr A., Mudrak A. et al. Proteolytic Homeostasis in the Tissue of the Spleen and the Heart of Rats Injected with the Venom of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Current Applied Science and Technology*. 2023. Vol. 23(6). P. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.55003/cast.2023.06.23.015>.
19. Raksha N., Vovk T., Halenova T. et al. Influence of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* venom on protein-peptide profile in the liver, kidneys and small intestine of rats. *Current Topics in Peptide & Protein Research*. 2022. Vol. 23. P. 63–72. URL: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.085150524412&origin=inward&txGid=8afab279052d5ea4c982f449fc4370a5>.
20. Spolaore B., Fernandez J., Lomonte B. et al. Enzymatic labelling of snake venom phospholipase A2 toxins. *Toxicon*. 2019. Vol. 170. P. 99–107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.09.019>.
21. Teixeira C., Fernandes C.M., Leiguez E. and Chudzinski-Tavassi A.M. Inflammation Induced by Platelet-Activating Viperid Snake Venoms: Perspectives on Thromboinflammation. *Front Immunol*. 2019. Vol. 10. P. 2082. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02082>.
22. Ullah A., Masood R., Ali I. et al. Thrombin-like enzymes from snake venom: structural characterization and mechanism of action. *Int J Biol Macromol*. 2018. Vol. 114. P. 788–811. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.164>.
23. Zinenko O., Tovstukha I. and Korniyenko Y. PLA2 Inhibitor Varespladib as an Alternative to the Antivenom Treatment for Bites from *Nikolsky's Viper Vipera berus nikolskii*. *Toxins (Basel)*. 2020. Vol. 12 (6). P. 356. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12060356>.

REFERENCES:

1. Horalskyi, L.P., Khomych, V.T., & Kononskyi, O.I. (2011). *Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathology]*. Zhytomyr: Polissya [in Ukrainian].
2. Dobrelia, N.V., Boitsova, L.V., & Danova, I.V. (2015). Pravova baza dlia provedennia etychnoi ekspertyzy doklinichnykh doslidzhen likarskykh zasobiv z vykorystanniam laboratornykh tvaryn [Legal basis for ethical examination of preclinical studies of drugs using laboratory animals]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia – Pharmacology and Drug Toxicology*, 2, 95–100 [in Ukrainian].
3. Mudrak, O.V., Maievskyi, O.Y., Parfenyuk, A.I. et al. (2023). Ekoloho-biolohichne znachennya diyi otruty hadyuk na homeostaz ssavtsiv [Ecological and biological significance of the action of viper venom on the homeostasis of mammals]. *Ahroekolohichnyy zhurnal – Agroecological journal*, 1, 76–83. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.1.2023.276730> [in Ukrainian].
4. Mudrak, O.V. & Slietsova, I.V. (2022). Osoblyvosti vplyvu biotychnykh chynnykiv seredovyshcha na orhanizm ssavtsiv [Peculiarities of influence of biotic environmental factors on the body of mammals]. *Ahroekolohichnyy zhurnal – Agroecological journal*, 3, 160–166. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2022.266421> [in Ukrainian].
5. Alekseeva, A.S., Tretiakova, D.S., & Chernikov, V.P. et al. (2017). Heterodimeric V. nikolskii phospholipases A2 induce aggregation of the lipid bilayer. *Toxicon*, 133, 169–179. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.05.015> [in English].
6. Amazonas, D.R., Portes-Junior, J.A., Nishiyama-Jr, M.Y. et al. (2018). Molecular mechanisms underlying intraspecific variation in snake venom. *J Proteomics*, 181, 60–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.03.032> [in English].
7. Cesar, P.H.S., Braga, M.A., Trento. et al. (2019). Snake Venom Disintegrins: An Overview of their Interaction with Integrins. *Curr Drug Targets*, 20 (4), 465–477. DOI: <https://doi.org/10.2174/13894501196661022154737> [in English].
8. Crowther, J.R. (2000). The ELISA guidebook. *Methods in Molecular Biology*, 149: III–IV, (pp.1–413). Springer [in English].
9. Czajka, U., Wiatrzyk, A. & Lutynska, A. (2013). Mechanism of *Vipera berus* venom activity and the principles of antivenom administration in treatment. *Przegl Epidemiol*, 67 (4), 641–646 [in English].
10. Dyachenko, I.A., Murashev, A.N., Andreeva, T.V. et al. (2013). Analysis of nociceptive effects of neurotoxic phospholipase A2 from *Vipera nikolskii* venom in mice. *J Venom Res*, 4, 1–4 [in English].
11. Er, O., Eksin, H.M., Göcmen, B. et al. (2019). Investigation of *Vipera Anatolica* Venom Disintegrin via Intracellular Uptake with Radiolabeling Study and Cell-Based Electrochemical Biosensing Assay. *Appl Biochem Biotechnol*, 187 (4), 1539–1550. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2872-6> [in English].
12. Hadar, G., Kelmer, E., Segev, G. et al. (2014). Protein C activity in dogs envenomed by *Vipera palaestinae*. *Toxicon*, 87, 38–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.05.010> [in English].
13. Hummel, B. (1956). *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 1393–1995 [in English].

14. Kryukova, E.V., Potapenko, A.S., Andreeva, T.V. et al. (2019). Dimeric Disintegrins from the Steppe Viper *V. ursinii* Venom. *Doll Biochem Biophys*, 488 (1), 338–341. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1607672919050132> [in English].
15. Latinović, Z., Leonardi, A., Koh, C.Y. et. al. (2020). The Procoagulant Snake Venom Serine Protease Potentially Having a Dual, Blood Coagulation Factor V and X-Activating Activity. *Toxins (Basel)*, 12 (6), 358. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12060358> [in English].
16. Latinović, Z., Leonardi, A., Jernej, Šribar J. et. al. (2016). Venomics of *Vipera berus* to explain differences in pathology elicited by *Vipera ammodytes ammodytes* envenomation: Therapeutic implications. *J Proteomics*, 146, 34–47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.06.020> [in English].
17. Long, C., Liu, M., Tian, H. et al. (2020). Potential Role of Platelet-Activating C-Type Lectin-Like Proteins in Viper Envenomation Induced Thrombotic Microangiopathy Symptom. *Toxins (Basel)*, 12 (12), 749. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12120749> [in English].
18. Palamarchuk, M., Bobr, A., Mudrak, A. et al. (2023). Proteolytic Homeostasis in the Tissue of the Spleen and the Heart of Rats Injected with the Venom of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Current Applied Science and Technology*, 23(6), 1–13. DOI: <https://doi.org/10.55003/cast.2023.06.23.015> [in English].
19. Raksha, N., Vovk, T., Halenova, T. et al. (2022). Influence of *Vipera berus* and *Vipera berus nikolskii* venom on protein-peptide profile in the liver, kidneys and small intestine of rats. *Current Topics in Peptide & Protein Research*, 23, 63–72. Retrieved from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.085150524412&origin=inward&txGid=8afab279052d5ea4c982f449fc4370a5> [in English].
20. Spolaore, B., Ferandez, J., Lomonte, B. et. al. (2019). Enzymatic labelling of snake venom phospholipase A2 toxins. *Toxicon*, 170, 99–107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.09.019> [in English].
21. Teixeira, C., Fernandes, C.M., Leiguez, E. & Chudzinski-Tavassi, A.M. (2019). Inflammation Induced by Platelet-Activating Viperid Snake Venoms: Perspectives on Thromboinflammation. *Front Immunol*, 10, 2082. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02082> [in English].
22. Ullah, A., Masood, R., Ali, I. et. al. (2018). Thrombin-like enzymes from snake venom: structural characterization and mechanism of action. *Int J Biol Macromol*, 114, 788–811. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.164> [in English].
23. Zinenko, O., Tovstukha, I. & Korniyenko, Y. (2020). PLA2 Inhibitor Varespladib as an Alternative to the Antivenom Treatment for Bites from Nikolsky's Viper *Vipera berus nikolskii*. *Toxins (Basel)*, 12 (6), 356. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12060356> [in English].