

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

НІЯЗМЕТОВ ТИМУР САПАРБАЙОВИЧ

УДК 616.24:599.323.4:577.112.3:591.4:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЗМІНИ ЦИТОАРХІТЕКТОНІКИ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ
НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ
ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS**

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

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

_____ Т. С. Ніязметов

Науковий керівник:

Дзевульська Ірина Вікторівна, доктор медичних наук, професор;

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Ніязметов Т. С. Зміни цитоархітекτονіки та біохімічних показників надниркових залоз та сім'яників щурів за умов впливу отрути гадюк виду *Vipera berus*. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2024.

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання щодо встановлення морфологічних та біохімічних параметрів структури надниркових залоз та сім'яників при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри описової та клінічної анатомії: «Морфологічні особливості органів щурів за умов експериментального екзогенного впливу» (номер державної реєстрації 0122U000491).

Експеримент проведено на 50 білих безпородних щурах-самцях, що отримані з віварію Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Протягом дослідження експериментальних тварин розподіляли на групу контролю та дві групи досліду: щурі, яким внутрішньоочеревинно вводили отруту гадюки *Vipera berus berus* у відповідній дозі ED₅₀, та щурі, яким внутрішньоочеревинно вводили отруту гадюки *Vipera berus nikolskii* у відповідній дозі ED₅₀.

Вибір дози був обумовлений попередніми дослідженнями, в яких було чітко встановлені токсичні дози отрут звичайних гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*.

Для гістологічного дослідження забирали шматочки надниркових залоз та сім'яників у попередньо зважених тварин всіх груп та вивчали за допомогою методів світлової і електронної мікроскопії. Гомогенати

надниркових залоз та сім'яників, а також зразки крові експериментальних щурів використовували для проведення біохімічних і лабораторних досліджень.

При світловій мікроскопії надниркових залоз щурів контрольної групи встановлено, що клітини клубочкової зони утворюють тісно розташовані один до одного округлі кластери, форма ядер дещо різниться від овальної до округлої, з чіткими межами, ядерця є чітко окресленими на фоні світлого ядра з переважанням еухроматину; відзначається одне ядерце, цитоплазма слабо ацидофільна; клітини мають значний рівень вакуолізації. Елементи строми представлені сполучною тканиною з еозинофільними колагеновими волокнами та фібробластами, що характеризуються сплющеним темним ядром та незначною зоною еозинофільної цитоплазми довкола нього. Клітини пучкової зони розташовані стовпчиками і мають округлі ядра і ацидофільну цитоплазму. Клітини упаковані щільно одна до одної і мають форму від округлої до полігональної. Ядра інтенсивно базофільні з вираженою зернистістю, іноді спостерігається перинуклеарна вакуолізація. Цитоплазмі також притаманна вакуолізація, обумовлена ліпідними включеннями, хоча дещо менше виражена, ніж у клубочковій зоні. Клітини сітчастої зони дещо дрібніші, ніж у стовпчастій зоні, полігональної форми; мають округлі ядра та ацидофільну цитоплазму. Цитоплазматична вакуолізація є дещо менш вираженою, ніж у інших зонах. Синусоїди розширені, їх просвіти заповнені скупченнями еритроцитів. Більший, порівняно з іншими зонами кіркової речовини, діаметр синусоїд визначається їх подальшим впаданням в венозні канали, які забезпечують відтік крові. Мозкова речовина містить крупні клітини з базофільною зернистою цитоплазмою без накопичених ліпідів, з добре розвиненою мережею зернистої ендоплазматичної сітки, яка, завдяки наявності РНК, має кислу природу і забарвлюється гематоксиліном. Наявна значна кількість венозних каналів, які характеризуються наявністю скупчень еритроцитів.

При гістологічному дослідженні надниркових залоз щурів за умов дії отрути *Vipera berus berus* виявили, що клітини клубочкової зони утворюють округлі скупчення, розділені елементами строми, ядра без чітких контурів, гіперхромні, з нерівним контуром, та ознаками ранніх етапів каріопікнозу; цитоплазма ендокриноцитів вакуолізована, зерниста; структура колагенових волокон капсули розрихлена, має нечіткі межі як клітин, так і позаклітинних елементів; спостерігається скупчення агрегованих еритроцитів. В пучковій зоні наявні стовпчики інтенсивно еозинофільних клітин; зростає кількість перинуклеарних набряків; самі ядра інтенсивно профарбовуються, з чіткими межами та регулярною формою, гладенькими межами без ознак зморщування; між клітинами наявні крупні позаклітинні вакуолі; синусоїдні капіляри розширені, заповнені численними агрегованими еритроцитами. Сітчаста зона зазнає найменших змін, клітини менших розмірів, ніж у інших зонах, з темними ядрами; в стромі наявні фібробласти з темними сплющеними ядрами, розширені судини; подібно до сітчастої зони, мозкова речовина надниркових залоз не зазнає значних змін.

При проведенні гістологічного дослідження надниркових залоз щурів за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* в клубочковій зоні встановлена наявність нерівномірно розподіленої вакуолізації цитоплазми ендокриноцитів; межі між клітинами розмиті, присутні клітини практично без вакуоль; ядра та стромальна складова практично не зазнають змін. Клітини пучкової зони зберігають загальну організацію, формуючи стовпчики, колонки клітин не прилягають щільно одна до одної; цитоплазма зберігає еозинофільність, зерниста, в ній зменшується кількість ліпідних включень; ядра гіперхромні, дещо деформовані, з шипуватими контурами; межі судин порушуються, еритроцити потрапляють у просвіти між стовпчиками ендокриноцитів; межі клітин в найбільшій близькості від ушкоджених судин є нечіткими, цитоплазма набрякла, ядра не проглядаються; найближча зона до крововиливів подібна до скупчення клітинного детриту, еритроцити не злипаються у агрегати. Сітчаста зона зазнає найменш виражених змін, клітини

звичайної полігональної форми, щільно розміщуються, ядра регулярної округлої форми; у стромі також не спостерігається ознак патології. У крупних судинах мозкової речовини значні зони заповнені плазмою; на периферії судин спостерігається незначна вакуолізація та присутність еритроцитів. Ендотеліоцити вистилки вен патологічних змін не зазнають, їх цитоплазма зберігає слабку базофілію, присутні поодинокі чітко окреслені вакуолі, ядра характеризуються гіперхромністю.

Морфологічне дослідження сім'яників щурів контрольної групи встановило, що в капсулі та трабекулах наявні еозинофільні колагенові волокна, без розшарувань чи значних просвітів та сплосченими темними ядрами фібробластів, розташованих між ними. Інтерстицій рівномірний, з еозинофільним забарвленням та наявністю дрібних судин без ознак набряку чи агрегації формених елементів крові. Інтерстицій навколо сім'яних каналців характеризується наявністю клітин Лейдіга, що утворюють групи з декількох клітин. Клітини мають незмінену морфологію з полігональною формою, еозинофільною цитоплазмою, та великим круглим ядром із помітним ядерцем; рясний вміст ліпідів у цитоплазмі. Сплосчені ядра у безпосередній близькості до базальної мембрани належать міоїдним клітинам. Звивисті каналці регулярної округлої форми і нормальним розташуванням клітин Сертолі; мають тонку базальну мембрану та нормальну сперматогенну активність. Сперматогонії розташовані рівними рядами, прилеглими до базальної мембрани, мають велике темне ядро, що займає основну частину клітини, та незначний обідок цитоплазми; значний рівень конденсації хроматину; деякі з клітин демонструють фігури мітозу. Первинні сперматоцити є найбільшими сперматогенними клітинами, мають крупні світлі ядра через переважання еухроматину. Вторинні сперматоцити досить рідко можна побачити, вони майже відразу піддаються другому мейотичному поділу з утворенням двох гаплоїдних сперматид. Новоутворені округлі ранні сперматиди починають втрачати цитоплазму, їх ядро вертикально витягується. Зрілі сперматозоїди майже повністю заповнюють просвіти звивистих

каналъців, утворюючи в них еозинофільну масу. Підтримку всіх згаданих сперматогенних клітин здійснюють клітини Сертолі з подовженою пірамідальною формою та везикулярними ядрами.

При гістологічному дослідженні сім'яників щурів за умов дії отрути *Vipera berus berus* відмічається нижча реактивність враження стромальних елементів у порівнянні з паренхіматозними, щільна сполучна тканина капсули та трабекул не зазнає відчутних змін, дрібні та середні кровоносні судини в інтерстиції повнокровні, форма звивистих каналъців не змінюється і лишається регулярною; інтерстицій має збільшену кількість клітин Лейдіга. Відмічається відшарування та дезорганізація сперматогенних клітин на всіх стадіях розвитку. Просвіт каналъців пустий, сперматогонії нерегулярні, зменшеної кількості, відходять від базальної мембрани і не формують одного шару. Первинні сперматоцити в просвітах каналъців дезорганізовані, зміщуються до центру звивистих каналъців; всередині проглядається вакуолізація, що знаходиться довкола ядра. Ранні та пізні сперматиди у своєму розташуванні зсуваються до центру звивистих каналъців, втрачають зв'язок з клітинами Сертолі; ближче до центру просвіту каналъця вони утворюють еозинофільну аморфну масу разом зі зрілими сперматозоїдами.

При мікроскопічному дослідженні сім'яників щурів за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* виявляються трабекули з наявністю великих вакуоль та нерівномірно забарвленими ядрами фібробластів, з глибокими гетерохроматину; просвіти кровоносних судин перекриті; клітини Лейдіга численіші, з агрегацією гетерохроматину. Структура звивистих каналъців не порушена, форма їх регулярна; загальна площа сперматогенного епітелію, в порівнянні з центральним просвітом каналъця, значно зменшується. Сперматогонії нечислені, з нерегулярним розташуванням, не формують рядів і їх ядра розташовані на різній віддаленості від базальної мембрани каналъця;. Первинні сперматоцити мають розмиті межі, набряклу бліду цитоплазму довкола ядра; клітини Сертолі добре помітні. Ранні та пізні сперматиди зливаються в єдину масу клітин з нечіткими межами, мають бліді ядра з

нерівномірним розподілом хроматину та слабо-базофільну цитоплазму з численними набряками. Пізні сперматиди з округлими пікнотичними ядрами в центрі просвітів каналців; зрілі сперматозоїди утворюють неоднорідну еозинофільну масу в центрі звивистих каналців.

При біохімічному дослідженні крові та гомогенатів надниркових залоз та сім'яників щурів за умов дії отрути *Vipera berus* встановлено значний розвиток ендогеної інтоксикації; перерозподіл протеїнових фракцій; поява протеїнових молекул зі зміненими субстратними специфічностями; утворення великої кількості пептидних молекул з молекулярною масою нижче 5 кДа; патологічна активація протеолітичних процесів.

Таким чином, проведенні дослідження надниркових залоз та сім'яників у тварин контрольної групи показали, що дані органи мають типову будову, яка характерна для даного виду тварин.

Дослідження структурної організації надниркових залоз та сім'яників при впливі отрути гадюк *Vipera berus* встановили, що даний чинник викликає значні пошкодження структурних компонентів органів. Патологічний вплив отрути на надниркові залози проявляється пошкодженням ядерного апарату ендокриноцитів (гіперхромазія, каріопікноз, перинуклеарні набряки), що в свою чергу призводить до зниження ядерно-цитоплазматичного індексу. Спостерігається вакуольна ліпідна дистрофія, еозинофільна зернистість цитоплазми, розрихлення колагенових волокон, а також значні порушення судинного русла, активація стромальних клітин. У сім'яниках отрута спричиняє негативний вплив на репродуктивну функцію тварин. Кількість сперматогоній різко спадає, а площа сім'яних каналців, відповідно, стрімко зростає. Відмічається розширення просвіту каналців та блокування їх агрегатами злиплих статевих клітин на різних стадіях розвитку.

Дія отрут *Vipera berus* на досліджувані органи полягає в патологічній активації протеолітичних процесів, збільшені кількості активних зон протеолітичної активності в певних діапазонах та пептидних молекул, які можуть бути принципово новими лігандами в складній сигнальній системі

організму. Поява деградованих форм ферментів та потенційна зміна їх субстратної специфічності є тригером, який запускає патологічні процеси на рівні біохімічних каскадів як досліджуваних органів, так і на рівні цілого організму.

Ключові слова: надниркові залози, сім'яники, отрута змії, металопротеїнази, протеїновий профіль, ядерно-цитоплазматичний індекс, некроз, крововилив.

ANNOTATION

Niyazmetov T. S. Changes in cytoarchitectonics and biochemical indicators of adrenal glands and testes of rats under conditions of exposure to *Vipera berus* venom. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health care" in the speciality 222 "Medicine". – O. O. Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2024.

The dissertation not only presents a theoretical generalisation but also offers a significant breakthrough in the scientific and practical task of establishing the morphological and biochemical parameters of the structure of the adrenal glands and testes under the influence of *Vipera berus* venom. These findings are crucial for understanding the effects of exogenous and endogenous factors on metabolic processes.

The dissertation research was carried out by the scientific research plans of the National Medical University named after O. O. Bogomolets and is a fragment of the research work on descriptive and clinical anatomy: "Morphological features of rat organs under conditions of experimental exogenous exposure" (state registration number 0122U000491).

The experiment was meticulously conducted on 50 white outbred male rats obtained from the Taras Shevchenko Kyiv National University vivarium. During the study, the experimental animals were carefully divided into a control group and two

experimental groups: rats injected intraperitoneally with *Vipera berus berus* venom at the appropriate ED50 dose, and rats injected intraperitoneally with *Vipera berus nikolskii* venom at an appropriate ED50 dose.

The choice of dose was determined by previous studies, in which toxic doses of venoms of common vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* were established.

For histological examination, pieces of adrenal glands and testes were taken from pre-weighed animals of all groups and studied using light and electron microscopy methods. Homogenates of experimental rats' adrenal glands, testes, and blood samples were used for biochemical and laboratory studies.

During light microscopy of the adrenal glands of rats in the control group, it was established that the cells of the glomerular zone form closely spaced round clusters, the shape of the nuclei varies slightly from oval to round, with clear boundaries, the nucleoli are delineated against the background of a light nucleus with a predominance of euchromatin; one nucleolus is noted, the cytoplasm is weakly acidophilic; cells have a significant level of vacuolation. Stromal elements are represented by connective tissue with eosinophilic collagen fibres and fibroblasts, characterised by a flattened dark nucleus and a small zone of eosinophilic cytoplasm around it. The cells of the bundle zone are arranged in columns and have rounded nuclei and acidophilic cytoplasm. Cells are packed tightly to each other and have a shape from round to polygonal. Nuclei are intensely basophilic with pronounced granularity; sometimes, perinuclear vacuolisation is observed. Cytoplasm is also characterised by vacuolisation due to fatty inclusions, although it is somewhat less pronounced than in the glomerular zone. The cells of the reticular zone are slightly smaller than those of the columnar zone, polygonal in shape, and have rounded nuclei and acidophilic cytoplasm. Cytoplasmic vacuolisation is somewhat less pronounced than in other zones. The sinusoids are expanded, and their lumens are filled with clusters of erythrocytes. Compared to different areas of the cortical substance, the larger diameter of the sinusoids is determined by their further confluence into the venous channels that provide blood

outflow. Brain matter contains large cells with basophilic granular cytoplasm without accumulated lipids, with a well-developed network of granular endoplasmic reticulum, which, due to the presence of RNA, has an acidic nature and is stained with hematoxylin. There is a significant number of venous channels, which are characterised by the presence of clusters of erythrocytes.

During a histological study of the adrenal glands of rats under the conditions of *Vipera berus berus* venom, it was found that the cells of the glomerular zone form rounded clusters, separated by stroma elements, nuclei without clear contours, hyperchromic, with an uneven contour, and signs of the early stages of karyopyknosis; cytoplasm of endocrinocytes is vacuolated, granular; the structure of the collagen fibres of the capsule is loose, has indistinct boundaries of both cells and extracellular elements; an accumulation of aggregated erythrocytes is observed. Columns of intensively eosinophilic cells are present in the bundle zone; the number of perinuclear oedema increases; the cores themselves are intensively painted, with clear borders and a regular shape, smooth borders without signs of wrinkling; large extracellular vacuoles are present between cells; sinusoidal capillaries are expanded, filled with numerous aggregated erythrocytes. The reticular zone undergoes the least changes; the cells are smaller than in other zones, with dark nuclei; fibroblasts with dark flattened nuclei and dilated vessels are present in the stroma; similar to the reticular zone, the medulla of the adrenal glands does not undergo significant changes.

When conducting a histological examination of the adrenal glands of rats under the conditions of action of *Vipera berus nikolskii* venom in the glomerular zone, the presence of unevenly distributed vacuolisation of the endocrinocyte cytoplasm was established; the boundaries between cells are blurred, there are cells almost without vacuoles; nuclei and stromal component practically do not change. The cells of the bundle zone maintain the general organisation, forming columns; the columns of cells do not fit tightly to each other; the cytoplasm retains eosinophilicity and is granular, and the number of lipid inclusions decreases in it; nuclei are hyperchromic, slightly deformed, with spiky contours; the borders of the

vessels are violated, erythrocytes fall into the spaces between the columns of endocrinocytes; the boundaries of the cells in the closest proximity to the damaged vessels are indistinct, the cytoplasm is swollen, the nuclei are not visible; the nearest zone to the haemorrhages is similar to the accumulation of cellular detritus, erythrocytes do not stick together in aggregates. The reticular zone undergoes the least pronounced changes; the cells are of the usual polygonal shape, densely placed, and the nuclei are of a regular rounded shape; no signs of pathology are observed in the stroma either. In the large vessels of the brain substance, significant zones are filled with plasma; there is slight vacuolation and erythrocytes at the periphery of the vessels. Endotheliocytes of the lining of veins do not undergo pathological changes; their cytoplasm retains a weak basophilia, single clearly defined vacuoles are present, and the nuclei are characterised by hyperchromicity.

Morphological examination of the testes of rats in the control group revealed that eosinophilic collagen fibres are present in the capsule and trabeculae, without stratification or significant lumens and flattened dark nuclei of fibroblasts located between them. The interstitium is uniform, with an eosinophilic colour and small vessels without signs of oedema or aggregation of formed blood elements. The interstitium around the seminiferous tubules is characterised by Leydig cells forming groups of several cells. The cells have an unchanged morphology with a polygonal shape, eosinophilic cytoplasm, and a large round nucleus with a prominent nucleolus and abundant lipids in the cytoplasm. Flattened nuclei near the basement membrane belong to myoid cells. Convolute tubules of regular round shape and typical arrangement of Sertoli cells have a thin basement membrane and regular spermatogenic activity. Spermatogonia are located in even rows adjacent to the basement membrane and have a large dark nucleus occupying the central part of the cell, a slight rim of cytoplasm, and a significant level of chromatin condensation; some cells show mitosis figures. Primary spermatocytes are the largest spermatogenic cells; they have large light nuclei due to the predominance of euchromatin. Secondary spermatocytes are rarely seen; they almost immediately undergo the second meiotic division by forming two haploid spermatids. Newly

formed rounded early spermatids begin to lose cytoplasm, and their nucleus is vertically elongated. Mature spermatozoa almost fill the lumen of convoluted tubules, forming an eosinophilic mass in them. Sertoli cells with an elongated pyramidal shape and vesicular nuclei support all mentioned spermatogenic cells.

During histological examination of rat testicles under the conditions of *Vipera berus berus* venom, a lower reactivity of the impression of stromal elements is noted compared to parenchymal elements, the dense connective tissue of the capsule and trabeculae does not undergo significant changes, small and medium blood vessels in the interstitium are full of blood, the shape of convoluted tubules does not change and remains regular; interstitium has an increased number of Leydig cells. There is detachment and disorganisation of spermatogenic cells at all stages of development. The lumen of the tubules is empty; spermatogonia are irregular, reduced in number, depart from the basement membrane and do not form a single layer. Primary spermatocytes in the lumen of the tubules are disorganised and shift to the centre of the convoluted tubules; vacuolation surrounding the nucleus can be seen inside. Early and late spermatids in their location change to the centre of convoluted tubules and lose connection with Sertoli cells; closer to the centre of the tubule lumen, they form an eosinophilic amorphous mass together with mature spermatozoa.

Microscopic examination of testes of rats exposed to *Vipera berus nikolskii* venom reveals trabeculae with the presence of large vacuoles and unevenly coloured nuclei of fibroblasts with deep heterochromatin; lumens of blood vessels are blocked; Leydig cells are more numerous, with aggregation of heterochromatin. The structure of the convoluted tubules is not disturbed; their shape is regular; the total area of the spermatogenic epithelium, in comparison with the central lumen of the tubule, is significantly reduced. Spermatogonia are few, with an irregular arrangement, do not form rows, and their nuclei are located at different distances from the basal membrane of the tubule. Primary spermatocytes have blurred borders and swollen pale cytoplasm around the nucleus; Sertoli cells are clearly visible. Early and late spermatids merge into a single mass of cells with indistinct boundaries, have pale nuclei with uneven distribution of chromatin and weakly

basophilic cytoplasm with numerous swellings. Late spermatids with rounded pyknotic nuclei in the centre of tubule lumens; mature spermatozoa form a heterogeneous eosinophilic mass in the centre of convoluted tubules.

During the biochemical study of blood and homogenates of adrenal glands and testicles of rats under the conditions of action of *Vipera berus* venom, significant development of endogenous intoxication was established; redistribution of protein fractions; appearance of protein molecules with changed substrate specificities; formation of a large number of peptide molecules with a molecular weight below five kDa; pathological activation of proteolytic processes.

Thus, the study of adrenal glands and testicles in animals of the control group showed that these organs have a typical structure characteristic of this animal species.

Studies of the structural organisation of the adrenal glands and testicles under the influence of *Vipera berus* venom have established that this factor causes significant damage to the structural components of the organs. The pathological effect of the poison on the adrenal glands is manifested by damage to the nuclear apparatus of endocrinocytes (hyperchromasia, karyopyknosis, perinuclear oedema), which in turn leads to a decrease in the nuclear-cytoplasmic index. Vacuolar fatty dystrophy, the eosinophilic granularity of the cytoplasm, the loosening of collagen fibres, and significant violations of the vascular bed and activation of stromal cells are observed. In spermatozoa, the poison causes a negative effect on the reproductive function of animals. The number of spermatogonia decreases sharply, and the area of seminiferous tubules increases rapidly. The expansion of the lumen of the tubules and their blocking by aggregates of stuck germ cells at various stages of development is noted.

The effect of *Vipera berus* venom on the studied organs consists of the pathological activation of proteolytic processes, the increased number of active zones of proteolytic activity in specific ranges and peptide molecules, which can be fundamentally new ligands in the complex signalling system of the body. The appearance of degraded forms of enzymes and a potential change in their substrate

specificity is a trigger that triggers pathological processes at the level of biochemical cascades of both the organs being studied and at the level of the whole organism.

Keywords: adrenal glands, testes, snake venom, metalloproteinases, protein profile, nuclear-cytoplasmic index, necrosis, hemorrhage.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Palamarchuk, M., Niyazmetov, T., Halenova, T., Raksha. N., Maievskiyi. O., ... & Ostapchenko, L. (2022). Effect of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* venom on proteolytic balance in the tissue of the adrenal glands and testicles of rats. *Biomed Biotechnol Res J*, 6:543-9. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_287_22

2. Niyazmetov, T. S. (2023). Changes in the microscopic organisation of rat adrenal glands under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(3), 45-51. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-07)

3. Niyazmetov, T. S. (2023). Peculiarities of the microscopic structure of rat testis under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(4), 35-40. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-05)

4. Niyazmetov, T. S., Samborska, I. A., Butska, L. V., Kasianenko, D. M., Ocheretna, O. L., Halahan, Y. V., & Fik, V. B. (2024). Analytical and quantitative assessment of the structural components of the adrenal glands of rats under the conditions of exposure to the venom of vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Reports of Morphology*, 30(1), 76-83. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-10)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Ніязметов, Т. С., Дзевульська, І. В., & Іскра, Ю. А. (2023). *Аналіз протеїнового профілю наднирників та сім'яників за умов впливу отрути*

гадюк виду vipera berus berus. Збірник наукових праць: XIX Наукова конференція “Львівські хімічні читання – 2023”, Львів, 29–31 травня 2023 року – Львів: Видавництво від А до Я, 2023. – 254 с. (стор. 182). Львів.

6. Ніязметов, Т. С., & Семеник, В. М. (2024). *Зміни ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів клубочкової та пучкової зон кори надниркових залоз за умов впливу отрути гадюк виду vipera berus berus*. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Current challenges of science and education. Proceedings of the 5th International scientific and practical conference». MDPC Publishing. Berlin, Germany. 2024. Pp. 93-98.

7. Ніязметов, Т. С., & Семеник, В. М. (2024). *Зміни площі мікроциркуляторного русла у кірковій речовині наднирників за умов впливу отрути гадюк виду vipera berus berus*. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Modern problems of science, education and society. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference». SPC “Sci-conf.com.ua”. Kyiv, Ukraine. 2024. Pp. 188-191.

ЗМІСТ

	стор.
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	19
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ПРИ ДІЇ СТРЕСОРНИХ ФАКТОРІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	28
1.1. Особливості структурних змін надниркових залоз та сім'яників за умов впливу чинників різного генезу	28
1.2. Вплив отрути гадюк на структурно-функціональні характеристики органів ендокринної системи, в тому числі надниркових залоз та сім'яників	43
РОЗДІЛ 2 ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	55
2.1. Загальна методика і об'єкти дослідження	55
2.2. Методи дослідження	56
2.2.1. Біохімічні і лабораторні.	56
2.2.2. Гістологічні.	65
2.2.3. Морфометричні.	66
РОЗДІЛ 3 БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS	67
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS	82

4.1. Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів контрольної групи тварин	82
4.2. Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів експериментальної групи з введенням отрути <i>Vipera berus berus</i>	85
4.3. Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів експериментальної групи з введенням отрути <i>Vipera berus nikolskii</i>	
РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS	97
5.1. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів контрольної групи тварин	97
5.2. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів експериментальної групи з введенням отрути <i>Vipera berus berus</i>	
5.3. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів експериментальної групи з введенням отрути <i>Vipera berus nikolskii</i>	
РОЗДІЛ 6 МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS BERUS	109
6.1. Аналітична і кількісна оцінка стану надниркових залоз щурів з контрольної та експериментальних груп	109
6.1.1. Оцінка площі мікроциркуляторного русла у кірковій речовині надниркових залоз у контрольній та експериментальних групах	111

6.1.2. Оцінка ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів клубочкової та пучкової зон кори надниркових залоз контрольної та експериментальних груп	113
6.2. Аналітична і кількісна оцінка стану сім'яників та процесів сперматогенезу щурів з контрольної та експериментальних груп	117
6.2.1. Оцінка площі звивистих каналців у контрольній та експериментальних групах	119
6.2.2. Оцінка кількості сперматогоній у звивистих каналцях контрольної та експериментальних груп	121
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	124
ВИСНОВКИ	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	137
ДОДАТКИ	167

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

3FTX – трьохпетельні токсини
Asp Ps – аспарагінові протеази
BPPs – брадикінін-потенціюючі пептиди
CCl₄ – чотирьохлористий вуглець
CRISP – секреторні протеїнази
DI – дезінтегрини
KTPI – інгібітори протеаз типу Кунітц
LAAO – оксидази L-амінокислот
NP – натрійуретичні пептиди
PLA₂ – фосфоліпази A₂
SVMP – металопротеїнази
SVSP – серинові протеази
VEGF – ендотеліальний фактор росту F
ДДТ – дихлородифенілтрихлоретан
ДСН – додецилсульфат натрію
ЕПС – ендоплазматична сітка
НМР – низькомолекулярні речовини
ПААГ – поліакриламідний гель
ТХО – трихлороцтова кислота

ВСТУП

Актуальність теми. Отруєння внаслідок укусів змій є частою, але занедбаною проблемою охорони здоров'я в усьому світі та особливо в тропічних країнах. Щорічна смертність як наслідок зміїних укусів перевищує 138 000 [105, 145, 165]. Вважають, що дана проблема є недооціненою і в багатьох країнах окремі випадки укусів не підлягають належній фіксації [56, 73, 74, 134, 218]. В Індії кожного року від ускладнень, спричинених отрутою змій та гадюк помирає близько 58 000 людей [91, 109, 202].

Відомо, що токсини змій і гадюк являють собою складну суміш протеїнів, пептидів, низькомолекулярних речовин, солей у водному середовищі [40]. Зазвичай отрута чинить нейротоксичну дію, локальну деструкцію м'яких тканин в місцях її інюкуляції або вазогемотоксичний вплив. Клінічні прояви при цьому є різноманітними та включають локальні (набряк, некроз тканин), і системні [31, 36, 118, 207]. Останні проявляються у вигляді нервово-м'язових паралічів, рабдоміолізу, гіпотонії, колапсу, ДВЗ-синдрому [213]. Протягом останніх років науковці повідомляють про розвиток за даних умов ендокринних і метаболічних розладів, внаслідок дисфункції гіпофізу, ураження надниркових залоз, дисглікемії, електролітних порушень, ниркового тубулярного ацидозу [170, 182, 188, 196, 211, 216].

Ендокринна система, володіючи широким діапазоном гормонального впливу на різноманітні органи і системи, відіграє надзвичайно важливу роль у виникненні реакцій організму на дію подразників. При цьому не окремі гормони, а сумарний ендокринний баланс, що формується у стані стресу, напруги, обумовлює характер і силу компенсаторно-приспосувальних і захисних процесів для адаптації і резистентності організму в цілому [112, 184].

Надниркові залози посідають вагоме місце в ендокринній регуляції життєво важливих процесів організму людини в умовах змінного навколишнього середовища. Загальновідомим є той факт, що надниркові залози беруть участь

в механізмах пристосування індивіда при стресі екзо- чи ендогенного походження [35, 116, 123, 149, 210, 228]. Також встановлена їх роль в регуляції водно-мінерального обміну, синтезу біомолекул (протеїнів, ліпідів, вуглеводів) [98]. Слід зазначити, що надниркові залози забезпечують адаптацію та розвиток компенсаторно-пристосувальних змін в органах і системах у відповідь на дію стресорного чинника [32, 84, 111, 130, 159, 192]. Формування зазначених механізмів можливе, головним чином, завдяки впливу епінефрину та глюкокортикоїдів, рівень яких є визначальним фактором в ступені вираженості реакції організму та розвитку морфологічних змін в органах [48, 199].

Морфо-функціональні зміни органів чоловічої статеві системи зазвичай асоціюються з травмами, інфекційними захворюваннями, віком, способом життя, наявністю шкідливих звичок (зловживання алкоголем, наркотиками), впливом факторів навколишнього середовища, тощо. Однак не менш вагомою є дія природних токсинів, зокрема тих, що є компонентами тваринних отрут, в тому числі отрут змій та гадюк. Дана проблема наразі є предметом цікавості науковців, оскільки доведені факти розвитку виражених порушень структурної організації органів чоловічої статеві системи при впливі отрути змій.

Тому, всебічний аналіз гістологічних, біохімічних, гістохімічних зрушень надниркових залоз та сім'яників за умов впливу пошкоджуючих факторів, в тому числі токсинів отрути змій і гадюк, є актуальною задачею.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень Національного медичного університету імені О. О. Богомольця і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри описової та клінічної анатомії: «Морфологічні особливості органів щурів за умов експериментального екзогенного впливу» (номер державної реєстрації 0122U000491).

Мета дослідження – визначення особливостей морфологічних та біохімічних параметрів структури надниркових залоз та сім'яників при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Завдання дослідження:

1. Виявити на світлооптичному рівні прояви пошкодження надниркових залоз щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

2. Визначити на світлооптичному рівні прояви пошкодження сім'яників щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

3. Встановити морфометричні параметри змін в надниркових залозах та сім'яниках щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

4. Визначити біохімічні маркери ураження тканини надниркових залоз та сім'яників щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Об'єкт дослідження – особливості пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін в надниркових залозах та сім'яниках щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Предмет дослідження – гістологічні, імуногістохімічні та біохімічні зміни надниркових залоз та сім'яників щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Методи дослідження: гістологічний та гістохімічний – для дослідження мікроскопічних змін структури надниркових залоз та сім'яників; морфометричний – для проведення аналітичної та кількісної оцінки стану надниркових залоз і сім'яників щурів; біохімічний – для об'єктивної оцінки перебігу адаптивних та деструктивних процесів в надниркових залозах та сім'яниках щурів за умов експерименту; статистичного аналізу – для забезпечення передбачених описовою статистикою процедур визначення статистичної значущості розбіжностей між групами порівняння.

Наукова новизна одержаних результатів. В ході проведеного дослідження вперше встановлені *гістологічні* (у тварин, що піддавались дії отрути *Vipera berus berus* – *надниркові залози*: клітини паренхіми клубочкової зони утворюють округлі скупчення, розділені елементами строми; цитоплазма

ендокриноцитів характеризується вакуолізацією, їй також притаманна зернистість; стромальні елементи не піддаються відчутним змінам, проте структура колагенових волокон капсули розрихлена, має нечіткі межі як клітин, так і позаклітинних елементів; спостерігається скупчення агрегованих еритроцитів, у просвітах судин наявність порожнистих вакуоль. В *пучковій зоні* зростає кількість перинуклеарних набряків, між клітинами іноді наявні досить крупні позаклітинні вакуолі; синусоїдні капіляри у пучковій зоні, подібно до клубочкової, заповнені численними агрегованими еритроцитами, що призводить до розширення їх просвіту. *Сітчаста зона* зазнає найменших змін, клітини характеризуються меншими розмірами, ніж у інших зонах, темними ядрами; в стромі наявні фібробласти з темними сплющеними ядрами, розширені судини прямують до крупних венозних синусів мозкової речовини; подібно до сітчастої зони, *мозкова речовина* надниркових залоз не зазнає значних змін; – *сім'яники*: відмічається нижча реактивність враження стромальних елементів у порівнянні з паренхіматозними, щільна сполучна тканина капсули та трабекул не зазнає відчутних змін, дрібні та середні кровоносні судини в інтерстиції повнокровні, інтерстицій має збільшену кількість клітин Лейдіга. Відмічається відшарування та дезорганізація сперматогенних клітин на всіх стадіях розвитку. Сперматогонії втрачають регулярність свого розміщення і знижуються у кількості, відходять від базальної мембрани і не формують одного шару, в деяких каналцях сперматогонії практично не проглядаються. Загальна присутність первинних сперматоцитів в просвітах каналців не змінюється, проте їх розташування стає дезорганізованим, вони зміщуються до центру звивистих каналців. Ранні та пізні сперматиди у своєму розташуванні зсуваються до центру звивистих каналців, втрачаючи зв'язок з клітинами Сертолі; ближче до центру просвіту каналця вони утворюють еозинофільну аморфну масу разом зі зрілими сперматозоїдами. У просвіті каналців також наявні скупчення еритроцитів. У тварин, що піддавались дії отрути *Vipera berus nikolskii* – надниркові залози: в клубочковій зоні наявна нерівномірно розподілена вакуолізація цитоплазми ендокриноцитів; межі між клітинами

розмиті; стромальна складова також не зазнає значних змін. Клітини *пучкової зони* зберігають загальну організацію, формуючи стовпчики, проте між цими стовпчиками виявляються просвіти, самі колонки клітин не прилягають щільно одна до одної; цитоплазма стає зернистою, в ній зменшується кількість ліпідних включень, межі клітин часто є розмитими; межі судин порушуються, еритроцити потрапляють у просвіти між стовпчиками ендокриноцитів; зона найближче до крововиливу подібна до скупчення клітинного детриту, при цьому еритроцити не злипаються у агрегати. *Сімчаста зона* зазнає найменш виражених змін, у стромі також не спостерігається ознак патології. *Мозкова речовина* має зміни у циркуляторному руслі – у крупних судинах значні зони заповнені не форменими елементами крові, а плазмою; при цьому на периферії судин спостерігається незначна вакуолізація та присутність червоних клітин крові. Цитоплазма ендокриноцитів зберігає слабку базофілію, в цитоплазмі присутні поодинокі чітко окреслені вакуолі; – сім'яники: на фоні капсули, що практично не зазнала змін, характерні трабекули з наявністю досить великих вакуоль та нерівномірно забарвленими ядрами фібробластів; просвіти кровоносних судин повністю перекриті; кількість клітин Лейдига стають більш численними, в їх ядрах також спостерігається агрегація гетерохроматину у темні глибки. Загальна архітектура звивистих каналців лишається не порушеною, проте загальна площа сперматогенного епітелію, в порівнянні з центральним просвітом каналця, відчутно зменшується. Сперматогонії є нечисленними, розташування цих клітин є нерегулярним, вони не формують рядів і їх ядра розташовані на різній віддаленості від базальної мембрани каналця. Первинні сперматоцити мають розмиті межі клітин та набряклу бліду цитоплазму, набряк локалізується довкола їх ядра; клітини Сертолі стають помітнішими. Ранні та пізні сперматиди зливаються в єдину масу клітин з нечіткими межами, мають слабо-базофільну цитоплазму з численними набряками. Ближче до центру каналців від деяких з цих клітин залишаються голі ядра з уривками цитоплазми; наявні пізні сперматиди з округлими пікнотичними ядрами практично в центрі просвітів каналців; зрілі

сперматозоїди утворюють неоднорідну еозинофільну масу в центрі звивистих каналців, іноді зміщену до периферії), **та біохімічні** (значний розвиток ендогеної інтоксикації; перерозподіл протеїнових фракцій; поява протеїнових молекул зі зміненими субстратними специфічностями; утворення великої кількості пептидних молекул з молекулярною масою нижче 5 кДа; патологічна активація протеолітичних процесів) зміни в структурі надниркових залоз та сім'яників щурів при впливі отрути *Vipera berus*.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані дані морфологічного, морфометричного та біохімічного досліджень тканини, зразків крові та гомогенату надниркових залоз та сім'яників щурів за умов дії отрути гадюк виду *Vipera berus* свідчать про розвиток негативних гістологічних та біохімічних змін структури цих органів, що зумовлює необхідність в подальшому продовження досліджень щодо використання відповідних корегуючих заходів.

Результати досліджень використовуються в лекційних курсах та в ході проведення практичних занять на кафедрах: медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України; гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка; описової та клінічної анатомії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Автор брав участь у постановці та проведенні експериментального дослідження. Самостійно провів забір і підготовку матеріалу для гістологічного дослідження. Здобувачем особисто виконано патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури та написаний її аналітичний огляд, описані всі глави власних досліджень дисертаційної роботи, здійснено розробку основних теоретичних та практичних положень проведеного дослідження. Разом з науковими керівниками проведено аналіз отриманих результатів і сформульовані висновки. Гістологічне

дослідження виконано за консультативною допомогою д.б.н., проф. З. М. Небесної (кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського). Біохімічні дослідження виконані за консультативною допомогою д.б.н, проф. О. М. Савчука (кафедра біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка). У сумісних з науковими керівниками та колегами публікаціях здобувачу належать основні результати стосовно гістологічних, морфометричних та біохімічних змін у надниркових залозах та сім'яниках щурів за умов дії отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на XX Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення в науках про життя» (Київ, 2023); IX Міжнародній науково-практичній конференції «Modern research in science and education» (Чикаго, США, 2024); XI Міжнародній науково-практичній конференції «Science and society: modern trends in a changing world. Proceedings of the 6th International scientific and practical conference» (Відень, Австрія 2024); XIX Науковій конференції “Львівські хімічні читання – 2023” (Львів, 2023); міжнародній науково-практичній конференції «Current challenges of science and education. Proceedings of the 5th International scientific and practical conference». (Берлін, Німеччина, 2024); міжнародній науково-практичній конференції «Modern problems of science, education and society. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference» (Київ, 2024).

Публікації. Оpubліковано 4 наукові статті в виданнях, що відносяться до міжнародної наукометричної бази Scopus, з яких 2 самостійні (3 статті – в науковому фаховому журналі України; 1 стаття – в науковому фаховому журналі США), а також 3 тез в матеріалах науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 174 сторінках. Робота складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, аналітичного огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й

узагальнення результатів дослідження, висновків, списку літературних джерел, з яких 30 викладені кирилицею і 204 – латиницею, та додатків. Дисертаційне дослідження ілюстровано 22 рисунками та 12 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ АСПЕКТИ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ПРИ ДІЇ СТРЕСОРНИХ ФАКТОРІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Особливості структурних змін надниркових залоз та сім'яників за умов впливу чинників різного генезу

Надниркові залози посідають вагоме місце в ендокринній регуляції життєво важливих процесів організму людини в умовах змінного навколишнього середовища. Загальновідомим є той факт, що надниркові залози беруть участь в механізмах пристосування індивіда при стресі екзо- чи ендогенного походження [35, 116, 123, 149, 210, 228]. Також встановлена їх роль в регуляції водно-мінерального обміну, синтезу біомолекул (протеїнів, ліпідів, вуглеводів) [98]. Слід зазначити, що надниркові залози забезпечують адаптацію та розвиток компенсаторно-пристосувальних змін в органах і системах у відповідь на дію стресорного чинника [32, 84, 111, 130, 159, 192]. Формування зазначених механізмів можливе, головним чином, завдяки впливу епінефрину та глюкокортикоїдів, рівень яких є визначальним фактором в ступені вираженості реакції організму та розвитку морфологічних змін в органах [48, 199]. Тому, всебічний аналіз гістологічних, біохімічних, імуногістохімічних зрушень надниркових залоз за умов впливу пошкоджуючих факторів є актуальною задачею.

Вивчення адаптації організму до впливу таких чинників, як гіпергравітаційне навантаження та хронічний іммобілізаційний стрес є важливою медико-біологічною проблемою. Ендокринна система виконує провідну роль в реалізації пристосувальних механізмів організму у відповідь на дію екстримальних факторів. При гравітаційному навантаженні та

хронічному іммобілізаційному стресі всі органи ендокринної системи, а особливо надниркові залози залучаються до регуляції енергетичних і обмінних процесів, тісно взаємодіючи з нервовою і імунною системами [93, 103]. При цьому зміни, що відбуваються в структурних компонентах надниркових залоз за даних умов не є цілком встановленими.

Мороз Г. А. та співавтори (2016) в експериментах на щурах встановили, що за умов гіпергравітації в тварин розвиваються помірні циркуляторні розлади в надниркових залоз, що носять компенсаторно-приспосувальний характер. Гістологічні дослідження зразків тканини органу показали, що значна частина кровоносних судин мали ознаки повнокрів'я та стазу. Визначали потовщення стінок капілярів за рахунок компонентів базальної мембрани. Спостерігали незначний набряк перивазальної тканини. Капсула надниркових залоз також мала ознаки набряку та розшарування. Компоненти сполучної тканини в її складі були чисельними, волокна потовщеними. Гістоархітектоніка клубочкової зони була збережена. Клітини містили ядра із щільною каріоплазмою. Цитоплазма відрізнялась неоднорідністю електронної щільності. Мітохондрії мали дезорганізовані, деструктуровані кристи. Пучкова зона кори надниркових залоз характеризувалась тим, що серед клітин переважали темні спонгіоцити, що містили функціонально активні ядра, а цитоплазма їх мала окремі світлі ділянки за рахунок накопичення різного розміру вакуолей. Кристи мітохондрії клітин пучкової зони були зруйнованими, однак подекуди виявляли такі органели, що містили світлий матрикс та короткі везикулярні кристи. Характерним було розширення каналців ендоплазматичної сітки (ЕПС), значна кількість вільних рибосом і полісом. Також в світлих клітинах виявляли накопичення великої кількості ліпідних крапель. Ендокриноцити сітчастої зони за даних умов містили округлі великі ядра, цитоплазмі їх була нерівномірно просвітленою. Автори відмічали зменшення площі мозкової речовини надниркових залоз. Більшість епінефроцитів мали ознаки дегенеративних змін мітохондрій, розширення каналців ЕПС, редукції комплексу Гольджі. На думку дослідників, виявлені

дистрофічні зміни кіркових і мозкових ендокриноцитів є ознаками адаптації надниркових залоз до хронічного гіпергравітаційно-індукованого стресу.

Аналіз джерел наукової літератури показав наявність робіт, що присвячені впливу хронічного іммобілізаційного стресу на стан структури надниркових залоз щурів. Згідно даних окремих авторів за умов дії хронічного іммобілізаційного стресу на третю добу експерименту відмічають помірно виражені ознаки дилатації і повнокрів'я судин, незначне збільшення об'єму клітин клубочкової зони кори надниркових залоз та ендокриноцитів мозкової речовини. Пучкова зона характеризувалась наявністю тяжів клітин, а в сітчастій зоні останні мали кубічну форму. Через 14 діб дослідження спостерігали прояви набряку фіброзної капсули кори надниркових залоз і колагенових волокон в її складі. В судинах виявляли ознаки ураження ендотеліального шару. Клітини клубочкової та пучкової зон в даний термін експерименту відрізнялись вакуолярною дистрофією. Крім того, характерною була наявність периваскулярного набряку. На межі кіркової та мозкової речовини спостерігали помірно виражене розростання сполучної тканини. На 30-ту добу дослідження виявляли найвиразніші зміни структури надниркових залоз. Капсула їх була потовщеною, набряклогою. В клубочковій зоні подекуди відмічали вогнища некрозу клітин та клітини з проявами дистрофії. Навколо останніх спостерігали інфільтрацію тканини органу лейкоцитами. В даній групі спостереження на межі кіркової та мозкової речовини не спостерігались малодиференційовані клітини, що на думку дослідників є свідченням виснаження компенсаторно-адаптаційних та регенераторних процесів. В пучковій зоні відмічали наявність тяжів гіпертрофованих клітин. Останні характеризувались просвітленою цитоплазмою із збільшеною кількістю вакуолей. В окремих полях зору в пучковій зоні спостерігали вогнища некрозу ендокриноцитів. Судини кіркової речовини були повнокрівні, розширені. Відзначали також ділянки крововиливів навколо капілярів та периваскулярний набряк [15].

Результати досліджень ряду інших дослідників щодо впливу іммобілізаційного стресу на морфологічні зміни надниркових залоз демонструють виснаження відновних процесів органу, що проявлялось відсутністю низькодиференційованих клітин. В пучковій зоні експериментальних тварин ендокриноцити були збільшені в розмірах, розміщувались у вигляді тяжів. Зазначені клітини мали світлу цитоплазму та чисельні вакуолі. Також виявляли ділянки некрозів ендокриноцитів. В сітчастій зоні клітини мали кубічну форму, розміри їх були меншими, ніж такі в пучковій зоні. Судини кори надниркових залоз володіли ознаками повнокрів'я. Стінки артеріол характеризувались наявністю зон деградації ендотеліального шару. Вени були розширені, в просвітах їх спостерігали еритроцити. Стінки капілярів кори надниркових залоз за даних умов володіли ознаками порушення структурної організації базальної мембрани. Перикапілярні простори були набряклими, навколо судин виявляли чисельні геморагії [26].

Біологічні ефекти γ -випромінювання на організм людини є різноманітними та залежать від його інтенсивності. В наш час добре відомими є прояви надмірного γ -опромінення, що характеризуються вираженими клінічними симптомами та летальними наслідками. Однак за умов його низької інтенсивності можливою є модифікація життєво важливих функцій організму на клітинному та тканинному рівнях. При цьому, як зазначають науковці, першою системою, яка реагує на радіобіологічні ефекти γ -опромінення є нейроендокринна. Встановлено, що гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова ланка, що активується за зазначених умов, виступає в ролі фактора адаптації, а динаміка пристосувальних механізмів супряжена з варіабельною реакцією синтезу гормонів наднирковими залозами [168, 217]. Вивчення гістологічних перебудов надниркових залоз при дії низькоінтенсивного γ -опромінення розкриває можливості оцінки функціональних змін органу та встановлює резервні можливості його з метою профілактики і лікування ускладнень [156].

Згідно даних літератури, найбільш вивченими на сьогоднішній день є наслідки впливу на тварин γ -опромінення у віддалені періоди після експозиції. Науковці зазначають, що через 12 місяців від початку експерименту спостерігали відносно зростання площі мозкової речовини надниркових залоз щурів за рахунок зменшення кіркової речовини, а саме її пучкової зони. В останній виявляли зниження світлооптичної щільності ліпідів в ендокриноцитах. Клітини як пучкової, так і сітчастої зон зменшувались в розмірах, мали гіперхромні ядра. В більш пізні строки дослідження (через 18 місяців) виявляли протилежні зміни, а саме – співвідношення структурних компонентів надниркових залоз змінювались в сторону кіркової речовини. Клітини пучкової зони характеризувались тим, що цитоплазма їх мала коміркову будову, ядра збільшувались в розмірах. Також відзначали повнокрів'я судин, особливо капілярів сітчастої зони. В результаті дослідження науковці дійшли висновку, що низькоінтенсивне γ -опромінення чинить модулюючий вплив переважно на пучкову зону, стимулюючи, ймовірно, продукцію нею глюкокортикоїдів для формування віддаленого адаптаційного синдрому [102].

В більшості промислових об'єктів, зокрема на хімічних, металургійних виробництвах, працівники часто знаходяться в умовах впливу електромагнітного випромінювання. Відомо, що останнє значно впливає на органи зору, серцево-судинну та чоловічу статеву системи. Шарапова О. М. зазначає, що у щурів при опромінення ячок електромагнітним полем на 45-ту добу спостереження звивисті і прямі сім'яні каналці органу мали видовжену форму. Відмічали набряк і деформацію власної оболонки каналців, десквамацію сперматогенного епітелію. Останній містив гіпохромні ядра з ознаками пікнозу. В цитоплазмі спостерігали чисельні вакуолі. Стромальні клітини були поліморфними, деформованими [30].

Не менш важливою є проблема рентгенівського опромінення. Надзвичайно широке використання рентгенівського обладнання в медицині, техногенні катастрофи стають причиною посиленого інтересу науковців до дії

даного чинника на структуру яєчників. Глодан О. Я. в дослідях на щурах довів, що через 7 діб опромінення в тварин зменшувався діаметр звивистих трубочок, в інтерстиційному просторі виявляли геморагії. Знижувалась чисельність сперматоцитів на стадії прелептотени внаслідок ураження сперматогоній. На 30 добу спостереження в паренхімі яєчка виявляли ділянки фокальної резорбції, запалення, значної лімфоцитарної інфільтрації. В цей період дослідження не виявляли клітин сперматогенного епітелію в деструктивних і деформованих звивистих сім'яних каналцях. На 90 добу дослідження відмічали виражене потовщення протеїнової оболонки. Наявні поодинокі сперматогонії та клітини Сертолі в звивистих каналцях, в той час як клітини Лейдіга не відмічали. Електронно-мікроскопічні дослідження за даних умов встановили, що на 7 добу зрушення ультраструктури характерні для сперматогенного епітелію та власної оболонки звивистих каналців. Спостерігали зростання кількості багатоядерних сперматид, а також зміни будови їх акросоми. У власній оболонці звивистих трубочок відмічали складчастість базальної мембрани, наявність ліпідних крапель в цитоплазмі міоїдних клітин. Зростала чисельність колагенових волокон. На 30 добу відмічали поглиблення деструктивних процесів в сім'яних каналцях, периваскулярну запальну інфільтрацію. На 90 добу експерименту в сім'яних трубочках були наявні незрілі клітини Сертолі з недиференційованими ядрами. Інтерстиційна тканина яєчок також була незрілою. Клітини Лейдіга розміщувались між звивистими каналцями та характеризувались різним ступенем диференціації [11].

Встановлено, що негативні чинники оточуючого середовища згубно впливають на структурно-функціональні особливості всіх органів та систем. Постійне зростання рівнів солей важких металів, їх наночастинок, відходів промислового виробництва пояснює підвищену цікавість науковців до вивчення їх дії на організм людини. Відомо, що надниркові залози є чутливими таргетними органами для впливу токсинів різного походження, в тому числі металів [10, 11, 171].

Гринцова Н. Б. та співавтори (2019) вивчали віддалені наслідки дії солей важких металів на структуру надниркових залоз щурів. Згідно отриманих даних через 90 діб експерименту спостерігається потовщення сполучнотканинної капсули надниркових залоз з ознаками дезорганізації її шарів аж до вогнищового порушення цілісності. Привертає увагу той факт, що судини капсули були розширеними, повнокрівними, а структурна організація їх стінок порушена внаслідок потовщення медії, гіпертрофії і набряку ендотеліоцитів інтими. Крім того, епітеліоцити внутрішньої оболонки артерій характеризувались наявністю гіперхромних ядер, що подекуди випинали в просвіт судин. Дослідження зон кіркової речовини виявили порушення їх нормальної гістоархітекtonіки. Між клубочковою та пучковою зонами мікроскопічно не відмічали чіткої межі. В клубочковій зоні визначали нехарактерне розміщення клітинних тяжів. Останні мали світлу оксифільну цитоплазму з мілкою зернистістю, контури плазмолемми були нечіткими. Ядра ендокриноцитів гіперхромні, деякі з них мали початкові ознаки пікнозу. Клітини пучкової зони характеризувались оксифільною цитоплазмою, ознаками набряку, вакуолярної дистрофії. Базофільні ядра даних клітин були збільшеними, гіперхромними. Хроматин в більшості з них ущільнений, мав дифузний розподіл в каріоплазмі. Слід зазначити, що окремі ядра були пікнотичними. Сітчаста зона відрізнялась значними порушеннями структури судин, які були різко розширеними, повнокрівними. В них часто спостерігали агрегацію та складжі еритроцитів. Також внаслідок порушення проникності судинної стінки виявляли вихід плазми і формених елементів за її межі. Ендокриноцити (спонгіоцити) були гіпертрофованими, мали просвітлену цитоплазму, базофільні ядра. В останніх відмічали ущільнення та маргінацію хроматину. В сітчастій зоні характерним було наявність ліпідної дегенерації клітин, що свідчило про розлади процесів стероїдогенезу, а, отже, послаблення пристосувально-компенсаторних механізмів і перебігу синдрому адаптації у відповідь на вплив пошкоджуючого фактору. Виявлені морфологічні зміни вказують, що перебудова органу за умов впливу солей важких металів

охоплювала всі його структурні компоненти та супроводжувалась ознаками зниження функціональної активності.

В літературних джерелах поширеними є вивчення впливу червоного шламу, що утворюється під час промислової обробки алюмінію, на гістологічні зміни надниркових залоз. Результати однієї з експериментальних робіт демонструють, що через 14 діб дослідження в щурів спостерігали збільшення об'єму пучкової зони кори надниркових залоз та повнокрів'я її судин. Характерною ознакою було зростання чисельності ендокриноцитів, що мали світлу ущільнену цитоплазму. Даний факт, на думку авторів, є свідченням активації та посилення стероїдогенезу. Виявляли також зменшення ядерно-цитоплазматичного відношення в клітинах та зростання кількості ліпосом в них. Вивчення зразків крові показали в цей період підвищення концентрації кортизолу, що свідчило про розвиток стресорної реакції, яка полягала в зростанні функціонального напруження адренокортикоцитів пучкової зони. На 45-ту добу дослідження встановлено звуження пучкової зони. Клітини проявляли ознаки дистрофії у вигляді вакуолізації цитоплазми або її нерівномірного забарвлення. Відмічали підвищення ядерно-цитоплазматичного відношення та зменшення кількості ліпідних включень. Зазначені знахідки пов'язані з ще більшим поглибленням стресорної реакції та надмірною продукцією стероїдних гормонів. Останні зростали в крові піддослідних тварин на 13 %, в порівнянні з групою контролю. В найбільш віддалені терміни експерименту (180 діб) виявляли виражені дистрофічні зміни структури пучкової зони надниркових залоз та зниження концентрації кортизолу крові, що ймовірно є свідченням виснаження загального адаптаційного синдрому [3].

Окрім мікроскопічних досліджень структурних змін надниркових залоз при дії червоного шламу на організм експериментальних щурів, Борецький Г. Г. та співавтори (2016) проводили їх ультраструктурний аналіз. Як показує останній на 14-ту добу спостереження ендокриноцити пучкової зони характеризувались округлою формою та містили ексцентрично розміщені

ядра. Привертав увагу факт порушення міжклітинних контактів, оскільки виявляли як звуження, так і розширення міжклітинних просвітів. Цитоплазма клітин пучкової зони була набряклою, в ній зосереджувалась значна кількість мітохондрій, що мали везикулярні кристи. Поблизу даних органел спостерігали чисельні рибосоми і полісоми. Відмічали, що адренкортикоцити містили в цитоплазмі біля ядер погано розвинений комплекс Гольджі, в цистернах якого помітні дрібні везикули, а секреторного вмісту не виявляли. Крім того, слабо вираженою була і ЕПС, яка складалась з везикул і трубочок. Характерною знахідкою була наявність великої кількості ліпосом, однак вони в більшості випадків не містили ліпідних включень, про що свідчила їх низька електронна щільність. Ядра клітин мали інвагінації каріолеми, перинуклеарний простір значно звужений. Подекуди спостерігали ядра з ознаками пікнозу. Гетерохроматин в незначній кількості розміщувався маргінально або ж дифузно в каріоплазмі. Автори зазначають, що в ці строки експерименту зміни структури пучкової зони свідчать про посилення функції надниркових залоз, в порівнянні з групою контрольних тварин. На 45-ту добу дослідження ультраструктурний аналіз клітин пучкової зони показав, що в більшості з них цитоплазма містила порожнини без вмісту, чисельні порожні ліпосоми, що мали округлу форму, деякі з них були деформованими. Мітохондрії ендокриноцитів характеризувались великими розмірами, матрикс їх був зернистим, кристи зруйновані, іноді відмічали вогнищеві зони деструкції органел. При цьому мембрани їх пошкоджувались або зливались. Дослідники пояснюють цей факт з можливою прямою токсичною дією червоного шлему на процеси енергоутворення в мітохондріях. Вільні рибосоми, що розміщувались навколо мітохондрій характеризувались підвищеною щільністю і осміофільністю. Виявляли також розширення каналців ЕПС. Судини, що локалізовані навколо клітин пучкової зони мали ознаки ураження ендотелію у вигляді його фенестрації чи деструкції. Відмічали наявність окремих ділянок з повним руйнуванням ендокриноцитів пучкової зони. Зазначені деструктивно-дистрофічні зміни були свідченням

значного зниження функціональних можливостей надниркових залоз. На 180-ту добу в адренкортикоцитах пучкової зони спостерігали підвищення чисельності мітохондрій з чіткими контурами мембран, матрикс заповнений кристами. Ліпосоми в даний термін дослідження були чисельними та містили ліпідні краплі. Комплекс Гольджі, що розміщувався поблизу ядра мав ознаки відновлення своєї структурної організації в порівнянні з попередніми термінами, а ЕПС все ще була слабо вираженою. Ядра клітин пучкової зони округлі, окремі з них мали інвагінації каріолеми, перинуклеарний простір розширений. Гетерохроматин часто мав крайове положення або у вигляді скупчень дифузно розподілявся в каріоплазмі. На думку авторів даний період експериментального дослідження підтверджує активацію процесів внутрішньоклітинної репаративної регенерації в надниркових залозах за умов тривалого впливу на них червоного шלאму.

Термічні ураження шкіри, як відомо, асоціюють з розвитком не лише місцевих проявів, а й зі змінами на системному рівні. Наразі опікова хвороба включає в себе цілий комплекс змін органів та систем, які повинні забезпечити подальшу життєдіяльність організму. Однак у важких випадках, розвиток шоку є незворотнім явищем. Він стає причиною виражених морфологічних змін внутрішніх органів, розладів циркуляції крові, дистрофічних і некротичних процесів. Останні є надзвичайно активними в надниркових залозах, оскільки нейроендокринна система однією з перших реагує на термічну травму шкіри. Аналіз літературних джерел показав, що порушення судинної проникності, гіпоксія, накопичення значної кількості токсичних продуктів розпаду чинять негативний вплив на надниркові залози. Оскільки вони є ключовими учасниками зазначеного патологічного процесу, актуальним є ретельне дослідження морфологічних змін в них та ступеня їх вираженості залежно від терміну опікової хвороби [19, 27, 28].

Результати експериментів на щурах демонструють, що протягом першої доби від початку моделювання опіків шкіри перш за все структурні зміни виявляли в кровоносних судинах. Вони характеризувались розширенням

просвітів, кровонаповненням. Ендотеліоцити внутрішньої оболонки мали ядра видовженої форми, каріолема місцями інвагінована. В каріоплазмі зосереджений еухроматин, а гетерохроматин мав маргінальне положення. В цитоплазмі даних клітин чітко визначались збільшені в розмірах мітохондрії, каналці ЕПС. Компоненти базальної мембрани кровеносних судин були потовщеними. При електронно-мікроскопічному дослідженні виявлено також зміни клітин клубочкової зони кори надниркових залоз. Цитоплазма їх містила розширені, збільшені каналці гладенької ЕПС і цистерни комплексу Гольджі. Мітохондрії володіли ознаками дезорганізації крист і матриксу. Ядра були збільшеними, контури каріолеми не чіткі, значно зростала ширина міжмембранного простору. Ліпідні включення поодинокі. Аналогічні структурні зміни були характерними для ендокриноцитів пучкової зони. Деструктивні процеси компонентів кори надниркових залоз дещо поглиблювались на 3-тю і 7-му доби дослідження. Просвіти кровеносних судин, як і в попередньому терміні, розширені, повнокрівні. Мітохондрії ендотеліоцитів гіпертрофовані, кристи їх дезорганізовані, а матрикс електронно-світлий. Стерігається розширення каналців ЕПС та комплексу Гольджі. Елементи базальної мембрани є нечіткими. Адренкортикоцити клубочкової зони в цитоплазмі містили деструктивно змінені, гіпертрофовані мітохондрії з просвітленим матриксом. Знижувалась чисельність рибосом, полісом, каналців ЕПС. Характерним було зменшення розмірів ядер, оболонка їх мала випинання, міжмембранний простір розширювався. В даній групі дослідження, в каріоплазмі переважав гетерохроматин, що мав дифузний характер розподілу. Кількість ліпідних включень в цитоплазмі клітин клубочкової зони була незначною. На 14-21 добу дослідження судини кіркової речовини характеризувались наявністю деструкції їх структурних компонентів. При цьому спостерігали як розширення їх просвітів, так і місця локального спазму, що свідчило про розвиток стазу і порушення кровопостачання органу. В ендотеліальних клітинах більшість ядер були пікнотичними, зовнішня ядерна оболонка відшаровувалась, що призводило до

розширення міжмембранного простору. Гетерохроматин осміофільний, розміщений у вигляді незначних скупчень. В цитоплазмі ендотеліоцитів надзвичайно мало органел, структура їх різко змінена. В кірковій речовині клітини мали електроннощільну цитоплазму збіднену органелами. Останні були пошкодженими. Ядра в більшості випадків мали ознаки початкових стадій апоптозу. В пучковій зоні виявляли також клітини з проявами каріорексису ядер, а в цитоплазмі їх збільшувалась кількість лізосом і аутофагосом. На 30-ту добу дослідження виявлені в попередні терміни деструктивно-дегенеративні зміни поглиблювались, набували незворотного характеру. Зміни структури призводили до вираженого порушення ендокринної функції надниркових залоз, що мало надзвичайно негативний вплив на життєдіяльність тварин з опіками шкіри [12].

При гіпертермії середнього ступеня (температура 42-43,1 °С, 5 годин на добу протягом 2 місяців) в щурів відмічали повнокрів'я вен, ознаки інтерстиційного набряку, склероз стінок звивистих сім'яних каналців яєчок та наявність в них еритроцитів. В деяких звивистих каналцях виявляли вогнищеві ознаки ураження гермінативного епітелію, клітин Сертолі та порушення утворення сперматозоїдів. Електронно-мікроскопічні дослідження в даному періоді експерименту показали потовщення базальної мембрани волокнистого шару стінок сім'яних каналців. Виявляли порушення цілісності гематотестикулярного бар'єру внаслідок змін міжклітинних комунікацій фібробластів. В міоїдних клітинах ядра характеризувались ознаками пікнозу. Цитоплазма цих клітин була електронно-щільною, містила поодинокі мітохондрії та піноцитозні міхурці. Клітини Сертолі зазнавали виражених ультраструктурних змін. Ядра їх були гіперхромні. В цитоплазмі виявляли чисельні каналці гранулярної ЕПС, рибосоми, що було свідченням активності синтетичних процесів в клітинах. В експериментальних щурів зменшувалась частота мейозу сперматоцитів. Сперматиди перебували переважно на пізніх стадіях розвитку [25].

В умовах сучасного світу все гостріше постають проблеми забруднення екосистеми. Протягом останнього часу цікавість науковців привертає факт значного поширення в різноманітних продуктах харчування, воді та повітрі речовин, що зумовлюють розлади діяльності органів ендокринної системи [2, 83, 140]. Дані речовини здатні спричиняти гормоноподібні ефекти навіть в низьких концентраціях та порушувати ендogenous гормональні гомеостатичні механізми регуляції вітальних процесів живих організмів. Однією з таких сполук є дихлородифенілтрихлоретан (ДДТ) та його метаболіти. Вони часто використовуються в ролі пестицидів та є поширеними в навколишньому середовищі. Дослідники зазначають, що вплив ДДТ на організм в різні періоди онтогенезу зумовлює розвиток важких наслідків з боку органів ендокринної системи, в тому числі в надниркових залозах [71].

Гістологічні дослідження надниркових залоз, що піддавались впливу низьких доз ДДТ встановили наявність як морфологічних, так і функціональних змін, що розвиваються внаслідок перерозподілу відтоку венозної крові з мозкової речовини в кіркову. Відомо, що активація даних процесів є характерною для періоду гострого стресу, коли виникає необхідність в посиленому транспорті катехоламінів через порталну систему. Морфологічно це проявляється у вазодилатації судин мікроциркуляторного русла клубочкової та пучкової зон кори, стазі або ураженні стінок капілярів. Крім того, значно знижується функціональна активність хромафінних клітин мозкової речовини надниркових залоз, що підтверджується зниженням концентрації адреналіну в системному кровообігу внаслідок порушення секреторних процесів в зазначених клітинах. Встановлено, що в подальшому в них значно пригнічується активність тирозингідроксилази. Вплив низьких доз ДДТ спричиняє також виражені зміни у функціонуванні кори надниркових залоз. Так, виявлено помірне зростання концентрації кортикостерону в сироватці крові та значне зниження альдостерону. Рівні статевих гормонів, що продукуються сітчастою зоною, особливо естрадіолу були різко зниженими. Підвищення концентрації прогестерону та його основного метаболіту

кортикостерону з одночасним зменшенням продукції мінералокортикоїдів визначає вплив даної речовини на стероїдогенез. Електронно-мікроскопічні дослідження демонструють, що при впливі ДДТ в хромафінних клітинах зменшувалось чисельність мітохондрій, особливо під плазмолемою. Незначною була кількість специфічних гранул, які містять адреналін. Мітохондрії мали ознаки деструкції. Спостерігали зростання кількості первинних лізосом, вогнищеві геморагії. В клітинах клубочкової зони характерним було зменшення розмірів клітин, різке підвищення ліпідних включень, скорочення чисельності мітохондрій. Останні мали дезорганізовані кристи та ознаки набряку матриксу. В пучковій зоні були знайдені дистрофічні зміни клітин та загибель їх внаслідок порушення мікроциркуляції. Ближче до сітчастої зони у внутрішній пучковій зоні клітини мали більші розміри, ядра, кількість мітохондрій з набряком їх матриксу, а також краще розвинену ЕПС. В сітчастій зоні, не дивлячись на збільшення розмірів клітин та підвищене число мітохондрій, секреторні процеси і стероїдогенез були надзвичайно низькими [208].

Серед поширених та небезпечних поллютантів, що забруднюють повітря, воду, ґрунт, продукти харчування особливе місце займає кадмій. Експериментально доведено, що кадмій-індуковані порушення структури та функції ендокринних залоз, в тому числі яєчок є поширеним явищем. Встановлено його негативний вплив на процеси сперматогенезу, морфо-функціональні параметри клітин Сертолі і гематотестикулярного бар'єру. Хронічна інтоксикація хлоридом кадмію в щурів супроводжувалась потовщенням чи розшаруванням протеїнової оболонки яєчок. Характерним було розширення судин протеїнової оболонки, що виникало внаслідок гіпоксії, спричиненої кадмієм. Зростав діаметр звивистих сім'яних каналців, виявляли набряк строми яєчка. Спостерігали також зниження чисельності первинних сперматоцитів, апоптоз клітин внутрішнього шару звивистих сім'яних трубочок. Дослідники відмічали порушення процесів сперматогенезу. В

адлюменальному шарі знижувалась кількість сперматоцитів другого порядку, сперматид, а, отже, сперматозоїдів [20].

Ожиріння та високовуглеводна дієта асоціюються з низкою ендокринних розладів, включаючи гіперактивацію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи [131, 203, 209, 233]. Вираженими за даних умов є мікроскопічні та ультраструктурні зміни в стероїдогенних органах, таких як надниркові залози. Дослідження Medjerab M. та ін. (2019) демонструють, що за умов високовуглеводної дієти в корі надниркових залоз експериментальних щурів виявляють гіпертрофію клітин, особливо в пучковій зоні. В цій ділянці вони розміщувались у вигляді тяжів, міжклітинні простори їх розширені. Характерним була наявність жирової тканини в деяких ділянках, головним чином в пучковій зоні. Клітини кори надниркових залоз були оточені плазмолемою, що не мала чітких контурів. В них добре розвинена гладка ЕПС та комплекс Гольджі. Спостерігали чисельні лізосоми з високою електронною щільністю. Збільшувалась кількість мітохондрій, ліпідних крапель. В мітохондріях кристи розширені, матрикс дрібнозернистий з низькою електронною щільністю. Ліпідні краплі варіювали в розмірах, формі. Спостерігали наявність вогнищ зрілої волокнистої сполучної тканини в пучковій і сітчастій зонах, між якими дифузно розміщувались фібробласти та кровоносні судини. Також подекуди виявляли, що ендотеліоцити стінок кровоносних судин втрачали зв'язок з базальною мембраною. В окремих полях зору при гістологічному дослідженні відмічали, що клітини з'єднувались щільними контактами. В цитоплазмі їх наявні пластинчасті утворення, щільні тільця, мультивезикулярні тільця, деякі з них мали зв'язок з комплексом Гольджі. Знайдено також клітини з проявами руйнування. Залишки таких клітин можна було побачити в міжклітинних просторах, а деякі з них підлягали фагоцитозу макрофагами. Кількість макрофагів була помітно збільшеною в пучковій і сітчастій зонах. Чисельні ліпідні краплі та лізосоми спостерігали в їх цитоплазмі. Дані знахідки демонструють, що за умов високовуглеводної дієти в надниркових залозах активується система

макрофагів, зумовлюючи запуск запальних процесів, а також посилення проліферації компонентів сполучної тканини.

Підсумовуючи вище зазначені дані, можна стверджувати, що зміни структурної організації надниркових залоз виникають при дії значного спектру пошкоджуючих факторів екзогенного походження. Вони є складовими ключової ланки швидкого реагування за умов впливу різноманітних чинників, що забезпечує миттєву реакцію організму, формування ним компенсаторних і адаптаційних механізмів. Порушення морфофункціональних характеристик надниркових залоз призводять до значного зниження пристосувальних можливостей чи навіть їх повного виснаження. Тому дослідження особливостей гістологічних змін надниркових залоз при впливі стресорних факторів є важливою та актуальною задачею.

1.2. Влив отрути гадюк на структурно-функціональні характеристики органів ендокринної системи, в тому числі надниркових залоз та сім'яників

Отруєння внаслідок укусів змій є частою, але занедбаною проблемою охорони здоров'я в усьому світі та особливо в тропічних країнах. Щорічна смертність як наслідок зміїних укусів перевищує 138 000 [105, 145, 165]. Вважають, що дана проблема є недооціненою і в багатьох країнах окремі випадки укусів не підлягають належній фіксації [56, 73, 74, 134, 218]. В Індії кожного року від ускладнень, спричинених отрутою змій та гадюк помирає близько 58 000 людей [91, 109, 202].

На сьогоднішній день відомо близько 200 видів отруйних змій, більшість з яких належать до сімейств Elapidae та Viperidae (іноді сімейства Lamprophiidae і підсімейства Atractaspidinae). Вони відрізняються хімічним складом отрути та будовою отруйного апарату [62, 78, 81, 100].

Відомо, що токсини змії і гадюк являють собою складну суміш протеїнів, пептидів, низькомолекулярних речовин, солей у водному середовищі [40]. Зазвичай отрута чинить нейротоксичну дію, локальну деструкцію м'язових тканин в місцях її інюкуляції або вазогемотоксичний вплив. Клінічні прояви при цьому є різноманітними та включають локальні (набряк, некроз тканин), і системні [31, 36, 118, 207]. Останні проявляються у вигляді нервово-м'язових паралічів, рабдоміолізу, гіпотонії, колапсу, ДВЗ-синдрому [213]. Протягом останніх років науковці повідомляють про розвиток за даних умов ендокринних і метаболічних розладів, внаслідок дисфункції гіпофізу, ураження надниркових залоз, дисглікемії, електролітних порушень, ниркового тубулярного ацидозу [170, 182, 188, 196, 211, 216].

На сьогоднішній день встановлено, що до складу отрути змії і гадюк входять близько 50-200 різних компонентів, що зазвичай належать до чотирьох основних сімейств токсинів: фосфоліпази A_2 (PLA₂), металопротеїнази (SVMP), серинові протеази (SVSP), трьохпетельні токсини (3FTX) [136, 146, 150, 190]. Цікавим є той факт, що склад її може різнитись як на міжвидовому, так і внутрішньовидовому рівнях і залежить від таких факторів, як особливості онтогенезу, харчування, статі, адаптації до умов проживання [137, 230, 231]. Найбільш поширеними в країнах Європи є гадюки сімейства Viperidae, укуси яких асоціюють з чисельними летальними наслідками або розвитком гемотоксичних, цитотоксичних, нейротоксичних розладів. Серед всіх видів даного сімейства *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* є поширеними і на території України [17, 18, 29, 53, 99, 232].

Останні дослідження присвячені вивченню протеому отрути змії і гадюк виявили серед структурних складових більше десяти різноманітних сімейств протеїнів [46, 77, 87, 109, 206]. Окрім вище зазначених, часто відмічають наявність натрійуретичних пептидів (NP), аспарагінових протеаз (Asp Ps), багатих цистеїном секреторних протеїназ (CRISP), лектиноподібних пептидів С-типу, snaclecs proteins, оксидаз L-амінокислот (LAAO), дезінтегринів та інгібіторів протеаз типу Кунітц (KTPI), брадикінін-

потенціуючих (BPPs) та ангіотензиноподібних пептидів [55, 70, 76, 90, 104, 148, 162, 166, 187, 198, 205].

Згідно даних літератури, серед зазначених ферментів та протеїнів без каталітичних властивостей отрути змій клінічні симптоми спричиняють як правило PLA₂, SVSP, SVMР, snaclecs, лектиноподібні пептиди С-типу та дезінтегрини, а інші компоненти підсилюють або ж чинять синергічну до них дію [51, 127].

PLA₂ належать до надсімейства секреторних PLA. Вони зазвичай зустрічаються в організмі ссавців та в отруті павуків, змій, комах. Дана група ферментів каталізує гідроліз sn-2 ацильного зв'язку в мембранних фосфоліпідах клітин [39, 41, 183, 200]. Наслідком їх впливу є ураження плазмолем, руйнування клітини, а також диспропорційне вивільнення арахідонової кислоти. Останній факт асоціюється з продукцією прозапальних медіаторів, таких як простагландини, лейкотрієни шляхом активації циклооксигеназного, чи ліпоксигеназного механізмів [54, 139, 223]. Дані речовини залучаються до розвитку місцевих симптомів, а саме болю та запалення. Крім того, відомими є і інші ефекти PLA₂ – нейро-, міо-, кардіо-, цитотоксичний, антикоагулянтний, гіпотензивний [55, 64, 65, 101, 115]. Прикладом, зокрема, є амодитилін L, що відомий як міотоксичний протеїн, який містить секреторну PLA₂ в складі та є основною кардіотоксичною молекулою отрути гадюки *Vipera ammodytes* [113].

SVSP та SVMР чинять прокоагулянтну активність, а таргетами для них є один або більше факторів згортання крові [167, 197, 224]. SVSP зосереджують свій вплив головним чином на системну гемодинаміку. Вони спричиняють порушення згортання внаслідок активації ключових протеїнів коагуляційної, калікреїн-кінінової систем, системи комплементу та фібринолізу. Серед SVSP в складі отрути змій і гадюк виявляють такі види, як тромбіноподібні ферменти, активатори протромбіну, факторів V, X [125, 143, 212].

SVMР є цинк-залежними ендопептидазами з молекулярною масою 20-

100 кДа. Їх розподіляють на кілька підкласів у відповідності до організації доменів [86, 157, 201, 204]. SVMP є основними компонентами отрути, що зумовлюють місцеві чи системні кровотечі в організмі жертви. Геморагічна активність їх є результатом ураження цілісності стінок судин, виходу крові в строму органів, розщеплення компонентів базальних мембран [63]. Також вони чинять про- чи антикоагулянтну, антиагрегантну, апоптотичну, прозапальну дії [117, 123].

Лектиноподібні протеїни С-типу є протеїнами, що не володіють ферментативною активністю. Вони проявляють антикоагулянтний або тромбоцит-модулюючий вплив, однак є не активними по відношенню до лектину [128, 133].

Snakeless протеїни зв'язуються з рецепторами на поверхні клітинних мембран тромбоцитів, зумовлюючи пригнічення чи активацію їх агрегації. Неферментний механізм їх дії зумовлює розвиток тромбоцитопенії чи геморагій [69, 155].

Дезінтегрини також є сімейством неферментативних димерів. Вони являють собою низькомолекулярні пептиди, що модулюють клітинну адгезію, міграцію, апоптоз, агрегацію тромбоцитів, ангіогенез. Внаслідок наявності великої кількості мотивів у їх структурі (RGD, KGD, WGD, VGD, MGD, RTS, KTS), вони можуть взаємодіяти з різними типами клітин організму людини [45, 66, 120, 121, 126].

Вище зазначено, що спектр клінічних проявів укусів змій та гадюк є надзвичайно широким. Аналіз наукової літератури демонструє, що найбільш поширеними є місцеві ураження тканин, больовий синдром, лімфаденіт, геморагічні розлади, ураження нервової системи, нирок [60, 61, 94].

Локальні пошкодження тканин та запалення виникають внаслідок дії ферментів, а саме гіалуронідази, колагенази, протеїнази, PLA, що зумовлюють появу болю та набряку. Останній може поширюватись на оточуючі тканини та призвести до появи пухирів набряку і дерматонекрозу [138, 229]. Підвищення проникності судинної стінки є причиною місцевих екхімозів, системних

коагулопатій, тощо. SVMР за даних умов, впливаючи на позаклітинний матрикс, призводять до його деградації та вивільнення протеїнів з широким спектром біологічної дії [96, 181]. Деякі з них зумовлюють поглиблення деструкції тканин. Встановлено також, що SVMР часто стають причиною некрозів скелетних м'язів, порушення процесів їх репарації [97, 169, 219, 234].

Ураження лімфатичної системи при укусах змій також асоціюють з появою набряків. Крім того, вона залучена в процеси системного всмоктування токсинів отрути з місць інюкуляції. Припускають, що окремі компоненти отрути можуть бути нейтралізовані в лімфатичних шляхах, однак даний процес є надзвичайно повільним [163, 214].

Прокоагулянтні токсини отрути змій спричиняють коагулопатії, виснажуючи фактори каскаду згортання крові та призводячи до спонтанних чи неконтрольованих кровотеч [43, 106, 124, 178]. Отрута різних видів змій і гадюк відрізняється ступенем впливу на фактори коагуляції [107, 176]. Слід зазначити, що часто спостерігають розвиток тромбоцитопенії, мікроангіопатичну гемолітичну анемію [80, 158]. Токсини стають причиною тромбозів та, як результат, інфаркту міокарда, інсультів [42, 202]. Серед відомих механізмів інфаркту є зокрема гіповолемія, коронарні тромбози, пряма токсична дія отрути на кардіоміоцити, гіпоксія, вазоконстрикція, некроз, тромбоз мікросудин [85, 108, 114, 135, 173, 174]. У випадку отруєння токсинами гадюк сімейства *Crotalinae* часто спостерігають дисфункцію тромбоцитів внаслідок впливу SVMР та лектиноподібних пептидів С-типу, що зумовлюють агрегацію, секвестрацію тромбоцитів [95, 160].

Нервово-м'язові паралічі є одними з провідних клінічних симптомів внаслідок дії отрути гадюк. Нейротоксини можуть бути пост- або пресинаптичними, викликають розвиток млявих паралічів дихальних м'язів, що стає причиною дихальної недостатності [82, 194, 195, 221]. Міотоксичність в даному випадку є наслідком прямого впливу отрути, порушення цілісності плазмолемі і надлишкового надходження Ca^{2+} всередину клітини. Цей процес може ініціювати цілу серію дегенеративних явищ, одним з яких є рабдоміоліз

[154, 222].

Характерним є розвиток гострої ниркової недостатності як наслідок отруєння токсинами гадюк. Отрута їх чинить нефротоксичний ефект через запальні цитокіни, що зумовлюють дегенеративні зміни судинних клубочків нирок, їх атрофію, відкладання протеїнового детриту в сечових просторах. Токсини деяких видів змій спричиняють іноді окисний стрес, знижують перфузію нирок та швидкість клубочкової фільтрації. Нефротоксичність є також результатом мікроангіопатій, гемолітичної анемії, рабдоміолізу, порушення кліренсу продуктів протеїнового розпаду, імунних комплексів чи гіповолемічного шоку [38, 59, 67, 68, 79, 91, 185, 215].

Ендокринна система, володіючи широким діапазоном гормонального впливу на різноманітні органи і системи, відіграє надзвичайно важливу роль у виникненні реакцій організму на дію подразників. При цьому не окремі гормони, а сумарний ендокринний баланс, що формується у стані стресу, напруги, обумовлює характер і силу компенсаторно-приспосувальних і захисних процесів для адаптації і резистентності організму в цілому [112, 184].

На сьогоднішній день опубліковано незначну кількість робіт щодо впливу отрути змій та гадюк на органи ендокринної системи, особливо гіпофіза та / або надниркові залози. Відомо, що особливості гістоструктури та біохімічних процесів в надниркових залозах роблять їх надзвичайно вразливими до дії різних токсинів [189]. Оскільки вони, як і більшість периферичних ендокринних органів знаходяться під контролем гіпоталамо-гіпофізарної системи, з'ясування механізмів патологічної дії отрути на них є важливим завданням.

Гіпопітуїтаризм є рідкісним, однак добре вивченим ускладненням зміїних укусів, переважно гадюк видів *Daboia russelii* та *Daboia siamensis*. Патофізіологічні механізми, що лежать в основі недостатності гіпофізу близькі до таких при синдромі Шихана та зумовлені набряком і порушенням кровопостачання органу. Відомим є той факт, що отрута змій чинить прямий токсичний вплив на клітини гіпофіза та може викликати дозозалежну секрецію

соматотропіну, адренкортикотропного, тиреотропного гормонів, не зумовлюючи при цьому лізис клітин. Порушення кровопостачання залози виникає, ймовірно, внаслідок мікротромбозів судин, кровотечі, ДВЗ-синдрому [186]. Набряк гіпофіза асоціюють з тим, що можливим є перетискання судин кістковими структурами турецького сідла. Крім того, слід звернути увагу на гіпотонію і циркуляторний шок, що є наслідками укусів змій та теж пов'язані з розладами кровопостачання вітальних органів, в тому числі гіпофіза. Внаслідок серії розтинів пацієнтів, які стали жертвами зміїних укусів, досліджено, що ДВЗ-синдром є передвісником крововиливу чи некрозу органа [49]. Окремі науковці припускають також, що дисфункція передньої частки гіпофіза може бути пов'язана з утворенням аутоантитіл. Встановлено, що при укусах змій та гадюк гостра недостатність гіпофіза розвивається протягом двох тижнів та характеризується гіпоглікемією, рефрактерною гіпотензією. Хронічна недостатність може бути безсимптомною та характеризується втратою ваги. Дослідники зазначають, що найбільших змін зазнають соматотропоцити (83 %) та гонадотропоцити (50 %). У випадку вазотоксичної дії отрути змінам підлягають кортикотропоцити (39 %). Ушкодження гонадотропоцитів до початку статевого дозрівання може зумовлювати його затримку чи повну відсутність, що проявляється первинною аменореєю у дівчат та відсутністю вторинних статевих ознак як у дівчат, так і юнаків. Якщо ураження відбувається пізніше, може зумовлювати вторинну аменорею у жінок, еректильну дисфункцію у чоловіків, порушення фертильності [172, 225].

Серед відомих ускладнень, які асоціюються з ураженням надниркових залоз при укусах змій і гадюк є крововиливи та гостра надниркова недостатність. Крововиливи були зафіксовані при чисельних аутопсіях. В більшості випадків характерною є гематома надниркових залоз, а в 25 % фіксували двохсторонній крововилив, 6 % мали ішемічний некроз. Як і гіпофіз, надниркові залози мають добре кровопостачання, а тому етіологія геморагічних ускладнень прирівнюється до синдрому Уотерхауса-

Фрідеріксена. Оскільки отрута містить як активні прокоагулянтні компоненти, так і ті, що зумовлюють кровотечі, розвиток ДВЗ-синдрому, крововиливи та некроз надниркових залоз є характерними явищами [50].

Finol H. J. та ін. (2020) досліджували вплив отрути *Bothrops venezuelensis* на морфологічні зміни надниркових залоз експериментальних тварин. Результати їх демонструють, що в судинах кори надниркових залоз за даних умов виявляли порушення цілісності ендотеліального вистилення, випинання епітеліальних клітин в просвіт капілярів. Адренкортикоцити містили круглі та овальні трубчасті утворення, що ймовірно належали гладенькій ЕПС. Наявні набряклі мітохондрії з мізерним числом крист. Ядра клітин мали нечіткі контури, збагачені гетерохроматином, перинуклеарний простір значно розширений. Визначали наявність комплексу Гольджі, набряклої гранулярної ЕПС, аутофагосом. Помітними були ліпідні краплі з різною електронною щільністю. Поблизу мітохондрій спостерігали гранули ліпофусцину. Через 6 годин після введення отрути дослідження показали наявність в клітинах кори надниркових залоз фібробластів з видовженими ядрами. Дані клітини розміщувались між плазмолемою адренкортикоцитів та стінкою капілярів. Виявлено набряк цистерн гранулярної ЕПС. Мітохондрії дезорганізовані, а в цитоплазмі помітні ліпідні включення. Спостерігали химерні утворення в цитоплазмі, схожі за будовою до ядра, що оточені оболонкою. Ліпідні включення мали високу електронну щільність. Через 24 години експерименту в ендотеліальному вистиленні судин надниркових залоз відмічали наявність фенестр, а також окремі ділянки з порушенням цілісності. В клітинах кори надниркових залоз характерною була незначна кількість ліпідних крапель, наявні цистерни і трубочки гладенької ЕПС, чисельні набряклі мітохондрії, мультивезикулярні тільця, лізосоми. В деяких ядрах даних клітин перинуклеарний простір був розширений. Подекуди спостерігали ядра без гетерохроматину та такі, що містили електронно-щільні тільця, які ймовірно відповідають ядерцям, але їх характерна будова втрачена. Дані морфологічні зміни структурної організації надниркових залоз автори пов'язують з впливом

основних компонентів отрути, а саме протеаз, PLA, чисельних неферментних токсинів.

За даними ряду дослідників отрута гадюк *Crotalus rufanorum* спричиняє порушення нормальної гістоархітекtonіки надниркових залоз щурів. Встановлено, що через 3 години після введення її піддослідним тваринам в клітинних кори органу виявляють набряк крист мітохондрій, цистерн гладенької ЕПС, наявність тілець Вайбеля-Паладе, електронно-щільних ліпідних крапель. Окремі мітохондрії при цьому мали трубчасті кристи. Через 6 годин дослідження в кірковій речовині надниркових залоз виявляли капіляри, всередині яких зосереджувалась значна кількість еритроцитів. В деяких ендокриноцитах спостерігали підвищення секреторної активності, що проявлялось у збільшенні органел, які відповідають за продукцію і синтез. Мітохондрії мали підвищену електронну щільність. Ліпідні краплі присутні у значній кількості, а гладенька ЕПС зазнавала редукції. Ядра мали різну електронну щільність та різний вміст гетерохроматину, каріолема володіла ознаками набряку. Подекуди визначались клітини, де спостерігали набряк або втрату крист мітохондрій або ті, що піддавались аутофагії. Через 24 години експерименту виявляли порушення структурної організації стінок капілярів. Останні мали відшарування ендотелію від базальної мембрани. Просвіт капілярів був заповнений еритроцитами. Ендотеліоцити втрачали електронну щільність цитоплазми, мітохондрії не мали крист. В цитоплазмі адренкортикоцитів були наявні ліпідні краплі, лізосоми та мітохондрії з дегенеративними змінами крист. Ядерна оболонка клітин кіркової речовини набрякла, в них також помітні дегенеративні процеси. Деякі клітини в цитоплазмі містили гладеньку ЕПС та володіли початковими ознаками некрозу. Слід зазначити, що протягом даного дослідження науковці приділили особливу увагу структурним змінам мітохондрій. Так, при їх ультраструктурному аналізі через 3 години експерименту спостерігали збільшення міжмембранного простору мітохондрій, ознаки їх аутофагії, порушення цілісності крист. Подекуди були наявні ділянки відсутності

внутрішньої мітохондріальної мембрани. Через 6 годин характерними були пошкодження мембран органел, вакуолізація матриксу. На 24-ту годину дослідження відмічали ще більше розширення міжмембранного простору, зростання електронної щільності матриксу мітохондрій, розриви, руйнування оболонки, зникнення крист, а ті кристи, які лишилися були набряклими. Автори вважають, що отрута цих гадюк чинить токсичний вплив на органели через дію протеаз і PLA [88].

За даними Sánchez E. E. та співавторів (2018) при дії кротамін-подібного пептиду отрути змії сімейства Crotalidae на кору надниркових залоз найбільшого пошкоджуючого впливу зазнають пучкова та сітчасті зони. В клітинах зазначених зон кори надниркових залоз при морфологічних дослідженнях виявляли розширення каналців гладенької та гранулярної ЕПС, що на думку дослідників призводило до порушення процесів синтезу стероїдних гормонів. Характерними були вакуолярна дегенерація, крововиливи та вогнища некрозів. Подекуди при тривалому впливі отрути виявляли атрофію, вузлову гіперплазію та фіброзно-проліферативні зміни кіркової речовини надниркових залоз.

Вивчення впливу зміїної отрути на будову та функцію сім'яників пов'язане з їх важливими функціями, що мають складні механізми регуляції. Такі фактори, як активний мітоз, наявність бар'єру між кров'ю та сім'яниками, сперматогенний цикл і гормональний контроль, ускладнюють реакцію цього органу на зовнішні токсичні фактори.

Проте загальні механізми типів тестикулярної токсичності можна класифікувати за певними механізмами розвитку. Перш за все потрібно аналізувати первинну токсичність – прямий вплив отрути на сперматогенний епітелій. Крім того, існує декілька непрямих факторів впливу отрути на цей орган, пов'язаних з регуляцією його функцій та кровопостачанням. Зокрема, непрямий гормональний вплив на сперматогенез та порушення кровообігу в ячку також можуть призводити до патологічних змін. При гістологічній оцінці тестикулярної токсичності дуже корисними є гістологічні моделі

токсичних уражень, спричинених різними модельними хімічними речовинами, класифікованими на основі механізмів їх дії [191]. Дослідження впливу токсичних сполук на будову та функцію сім'яників переконливо свідчать про те, що саме ранні зміни, а не ті, що відбуваються на пізніх стадіях, є особливо корисними для розуміння механізмів їх дії.

Ajisebiola B. S. та ін. встановили, що отрута змій *Naja nigricollis* зумовлює розвиток морфологічних та біохімічних змін в тканині яєчок дослідних тварин. У щурів за даних умов виявляли атрофію тубулярного епітелію яєчок, значне зменшення кількості сперматогенних клітин, їх некроз, спотворення структури зародкового епітелію. В тканині органу відмічали зниження активності каталази, глутатіонпероксидази та зростання рівнів малонового діальдегіду, IL-1 β , TNF- α [33].

Токсини отрути змій *Echis ocellatus*, за даними ряду авторів, спричиняють розвиток запального процесу в тканині яєчок щурів, дегенеративних змін зародкового епітелію та епітелію звивистих каналців, тубулярну атрофію [34].

Alberto-Silva C. та співавтори [37] в експериментах на щурах при введенні їм отрути змій *Bothrops jararaca* спостерігали порушення цілісності епітеліального вистилення звивистих сім'яних каналців, відсутність в них сперматид. Подекуди виявляли дегенеративні зміни звивистих сім'яних каналців, збільшення їх діаметру, розширення просвітів. Зменшувалась також кількість сперматоцитів на стадії пахітени, округлих сперматид та плюрипотентних сперматоцитів. Зазнавала змін при цьому і загальна опорна здатність клітин Сертолі. Дослідження інших вчених щодо дії токсичних компонентів отрути цих змій продемонстрували наявність мікроскопічних змін будови зародкового епітелію яєчок в адлюоменальному відділі, в просвітах звивистих сім'яних трубочок були наявні атипові багатоядерні клітини [92].

Таким чином, органи ендокринної системи одними з перших реагують на дію токсинів змій та гадюк. Наслідки їх укусів можуть мати гострий чи хронічний характер, однак спричиняють порушення структури та функцій

майже всіх центральних і периферичних органів зазначеної системи. Надниркові залози та сім'яники за даних умов залучаються до патологічного процесу та сприяють формуванню адаптаційного синдрому, зазнаючи, однак складних структурних перебудов. На сьогоднішній день, гістологічні зміни надниркових залоз і сім'яників при укусах змій і гадюк в наявних наукових джерелах є не достатньо висвітленими. Крім того, повністю відсутніми є дані щодо морфологічних зрушень будови органів за умов отруєння токсинами найбільш поширених європейських гадюк, а саме – *Vipera berus*, що і визначає актуальність обраної теми.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна методика і об'єкти дослідження

Експериментальне дослідження виконане з дотриманням міжнародних рекомендацій про проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин згідно з «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погоджене з положеннями «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [18]. Дотримання етичних принципів роботи засвідчено комітетом з біоетики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 6 від 06.09.2018 та протокол № 6 від 02.09.2021).

Тварин утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні в індивідуальних клітках. До введення досліджуваних речовин експериментальні тварини протягом не менше 5 днів проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення досліджень.

Щурі були поділені на 3 групи:

1 – контрольна (внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин в об'ємі 0,5 мл).

2 – щурам внутрішньоочеревинно вводили отруту гадюки *Vipera berus berus* в дозі ED₅₀ 1,576 мкг/г.

3 – щурам внутрішньоочеревинно вводили отруту гадюки *Vipera berus nikolskii* ED₅₀ 0,972 мкг/г.

Вибір дози був обумовлений попередніми дослідженнями в яких було чітко встановлені токсичні дози отрут звичайних гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*.

Розподіл щурів за групами експерименту.

Група	Кількість тварин	Речовини, які вводили тваринам
Контроль	n=10	NaCl в об'ємі 0,5 мл
Дослід	підгрупа 1 (n=20)	отрута гадюки <i>Vipera berus berus</i> в дозі ED ₅₀ 1,576 мкг/г
	підгрупа 2 (n=20)	отрута гадюки <i>Vipera berus nikolskii</i> ED ₅₀ 0,972 мкг/г

Через 24 години тварин умертвляли методом декапітації. Далі проводили їх розтин і здійснювали макроскопічні обстеження і опис внутрішніх органів. Всі виявлені патологічні зміни реєструвалися і підлягали подальшому біохімічному, гістологічному та електронно-мікроскопічному дослідженню.

2.2. Методи дослідження**2.2.1. Біохімічні і лабораторні.**

Реактиви та обладнання. В роботі були використані такі реактиви: казеїн, 0,05 М фосфатний буфер (pH 7.4), трихлороцтова кислота, ЕДТА, тріс(3-гідроксиметиламіноетан), гліцин, хлорид натрію, спирт етиловий 96%, бета-меркаптоетанол, акриламід, N,N'-метилен-біс-акриламід, персульфат амонію, TEMED, додецилсульфат натрію (ДСН), LMW маркери молекулярної маси протеїнів для електрофорезу, барвник Coomassie Brilliant Blue G-250, льодяна оцтова кислота. Решта хімічних реактивів (солі, кислоти, луги) була кваліфікації «чда» та «хч».

При проведенні досліджень використовували наступне обладнання: апарат для препаративного вертикального диск-електорофорезу (BioRad, США), центрифуга CM-6M «ELMI»; центрифуга Allegra 64R «Beckman Coulter»; мікропланшетний рідер виробництва фірми «BioTec» США; спектрофотометр «Smart Spec Plus» виробництва фірми «BioRad», США; автоматичні піпетки та дозатори «Humapette»; магнітні мішалки, піпетки автоматичні, термостати і т.д. є продукцією фірм, що працюють згідно стандарту ISO 9001; пластиковий лабораторний посуд (планшети для імуноферментного аналізу; планшети з несорбуючою поверхнею; еппендорфи, пробірки та інше отримано від фірми Sente-Lab; скляний лабораторний посуд (колби, стакани, пробірки, циліндри та інше) фірми Simax.

Отримання гомогенату тканин щурів.

Всі операції в період виділення проводили при температурі 1-4°C.

Для отримання гомогенату досліджуваних тканин, їх швидко вилучали, поміщали у чашку Петрі і промивали 0,9% NaCl. Зважували 0,5 г органу, подрібнювали ножицями, переносили в скляний гомогенізатор та гомогенізували в 50 мМ трис-HCl-буфері (1 мМ ЕДТА та 0,1 М трис-HCl, pH 7,4), у співвідношенні 1:10 (тканина : буфер). Час гомогенізації тривав 15 хв. Гомогенат центрифугували 20 хвилин при 2500 об/хв. Отриманий супернатант використовували для подальших.

Кількісне визначення протеїну.

Кількість протеїну визначали за методом Bradford [58]. Даний метод ґрунтується на здатності барвника Кумасі діамантово-синього G-250 змінювати забарвлення при зв'язуванні з протеїном, при цьому максимум поглинання зміщується відповідно з 465 до 595 нм. За таких умов концентрація барвника, що зв'язалась з протеїном прямопропорційна кількості протеїну в пробі.

Для визначення концентрації протеїна до пробі додавали 30% розчин NaOH, дистильовану воду та робочий розчин реактиву Бредфорд. Для

приготування робочого розчину змішували стоковий розчин реактиву, 95% етанол та 88% ортофосфору кислоту за співвідношення 2:1:2 та доводили водою до об'єму 100 мл. Стоковий розчин містив 10 мл 95% етанолу, 20 мл 88% ортофосфору кислоту та 35 мг кумасі діамантового синього. Інтенсивність забарвлення, яке утворювалось через 2-5 хв, вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 595 нм проти контролю, який замість проби містив дистильовану воду. Концентрацію протеїна у досліджуваному зразку визначали за калібрувальним графіком і виражали у мг/мл.

Приготування проб для електрофорезу.

Для одержання чіткої картини у ПААГ застосовують метод концентрування зразків за допомогою трихлороцтової кислоти (ТХО). Для цього зразки в мікропробірках змішують з 55% ТХО у співвідношенні 1:1 і залишають на 10 хвилин. Після п'яти хвилинного центрифугування при 10 000g зливають надосадову рідину. Додають 0,5 мл ацетону на пробу і знову центрифугують. Процедуру з ацетоном повторюють 2-3 рази, після чого зразки залишають на ніч для випаровування залишків ацетону.

Після випаровування зразки розчиняють у буфері для електрофорезу, що містив 0,01 М трис-НСІ буфер, рН 6,8, 2% додецилсульфат натрію, 10% сахарозу та 0,01% бромфенолового синього, у співвідношенні 1:1. Для диск-електрофорезу зразки прогрівали впродовж 2 хв, у той час як проби для ензим-електрофорезу нагріванню не піддавали.

Диск-електрофорез в поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію.

Для отримання електрофореграми проводили диск-електрофорез за методом Леммлі [52]. Процедури проводилися у камері для вертикального електрофорезу Mini-PROTEAN Tetra Cell (Bio-Rad). Камера для вертикального електрофорезу є пластиковим резервуаром з анодними та катодними буферними відсіками, в яких містяться відповідні електроди (Bio-Rad laboratories inc., 2015). Для дослідження готували пластини гелю товщиною 1

мм, застосовували 12% поліакриламідний гель (ПААГ) в якості гелю для розділення макромолекул, а також використовували 4% ПААГ в якості гелю для концентрації досліджуваних зразків. Для проведення електричного струму через електроди в камері для форезу готували електродний буфер, котрий містив Tris, гліцин та додецилсульфатнатрію (ДСН).

Гель для розділення макромолекул (12% ПААГ) вносили між двома зафіксованими в положенні скельцями, котрі були зафіксовані бортами знизу та по бокам. Після внесення гелю очікували 1 год до повної полімеризації останнього. Зразки, котрі містять протеїни поміщали у лунки, сформовані в ПААГ для концентрації, котрий вносили над гелем для розділення, в якому вже відбулась полімеризація. Електроди камери для вертикального електрофорезу (матеріал – платина) підключали до гнізда джерела живлення PowerPac Basic Power Supply (Bio-Rad). При проведенні дослідження застосовували силу струму 19 мА в час проходження протеїнового вмісту зразків через гель для концентрації. В фазі проходження протеїнового вмісту зразків через гель для розділення – застосовували силу струму 38 мА (Bio-Rad laboratories inc., 2015).

По проходженню вищеописаних процедур, отриманий гель забарвлювали розчином кумасі G-250 (0,125%), котрий містить 96 етанол, ізопропанол, а також концентровану оцтову кислоту. Після забарвлення, пластину гелю промивали в 8% розчині оцтової кислоти протягом години. За допомогою камери CANON IXUS 185 фотографували в цифровому форматі. За допомогою програмного забезпечення від лабораторії TotalLab - CLIQS Gel Image Analysis Software аналізували досліджувані зразки.

Ензим-електрофорез.

Розділяючий гель полімеризували за присутності желатину, фібриногену та колагену з розрахунку 1 мг/мл. Концентрація розділяючого гелю становила 12 %. Розділення зразків проводили за сили струму 19 мА.

Кінцевим етапом було відмивання гелів у 2,5% розчині тритону X-100 протягом години для видалення залишків ДСН. Після цього гелі заливали

0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4, що містив 0,13 М NaCl, та інкубували протягом 12 годин. Фарбування та фіксацію гелів здійснювали відповідно до стандартного протоколу проведення електрофорезу (розділ «Диск-електрофорез в поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію»). Проби попередньо не прогрівали за для попередження втрати протеїнами ферментативної активності.

Виділення та характеристика плазміногена.

Глу-плазміноген людини виділяли із цитратної плазми донорської крові методом афінної хроматографії на лізин-сефарозі [72]. Перевагою цього методу є зручність роботи, висока відтворюваність результатів і забезпечення необхідної чистоти та нативності протеїна. Також цей метод дозволяє одержувати препарати плазміногена позбавлені чи з дуже низькою спонтанною активністю.

Для одержання цитратної плазми до крові додавали консервант: на 1 л крові – 100 мл розчину, що містить 3,8% цитрату Na, 50 мМ ЕДТА, 50 мМ фосфатного буферу рН 7,4. Для видалення формених елементів кров центрифугували на центрифугі РС-6 при 2,5 тис. об/хв. протягом 40 хв.

Всі операції проводили при температурі 4°C. Одержану плазму розбавляли у 2 рази 0,1 М фосфатним буфером рН 7,4, додавали контрикал з розрахунку 10 тис. од. на 1 л плазми. Колонку врівноважували 0,05 М фосфатним буфером, рН 7,4. Розчин плазми наносили зі швидкістю 30 мл/год. Відмивку від неспецифічно зв'язаних протеїнів проводили 0,05 М фосфатним буфером, рН 7,4 з 0,25 М NaCl до поглинання E_{280} менше 0,01. Елюювали 0,2 М ϵ -АКК в 0,05 М фосфатному буфері, рН 7,4 зі швидкістю 40-50 мл/год. Об'єднували фракції з концентрацією протеїна вище за 0,05 мг/мл. Для подальшої очистки препарат, отриманий методом афінної хроматографії, висолювали $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ з розрахунку 0,41 г на 1 мл елюату. Центрифугували (на центрифугі РС-6 при 2,5 тис. об/хв, 40 хв), осад розчиняли в 0,05 М фосфатному буфері, рН 7,4 та обробляли протягом 2 годин 5 мМ ДФФ при кімнатній температурі, з метою інгібування спонтанної активності

домішкового плазміну. Потому проводили гель-фільтрацію на сефакрилі S-200. Отриманий таким чином препарат плазміногена зберігали при -20°C .

Чистоту одержаного препарату контролювали методом диск-електрофорезу у 10% ПААГ з ДС-На. На електрофореграммі з зразком у відновлених умовах виявилась одна смуга, яка відповідає молекулярній масі плазміногена – 92кДа (рис. 2.1). Для встановлення форми отриманого препарату плазміногена було проведено електрофорез у 10 % ПААГ з оцтовою кислотою та сечовиною за рН 3,2 (рис. 2.1) [164]. Це дозволило стверджувати, що отриманий препарат є Глу-формою плазміногена.

Визначення протеолітичної активності отриманого препарату Глу-плазміногена показало, що вона складає 18 казеїнолітичних одиниць/мг протеїну [175]. В разі інкубації отриманого плазміногена протягом 6 годин з хромогенним субстратом S_{2251} спонтанної активності у препараті не виявлено.

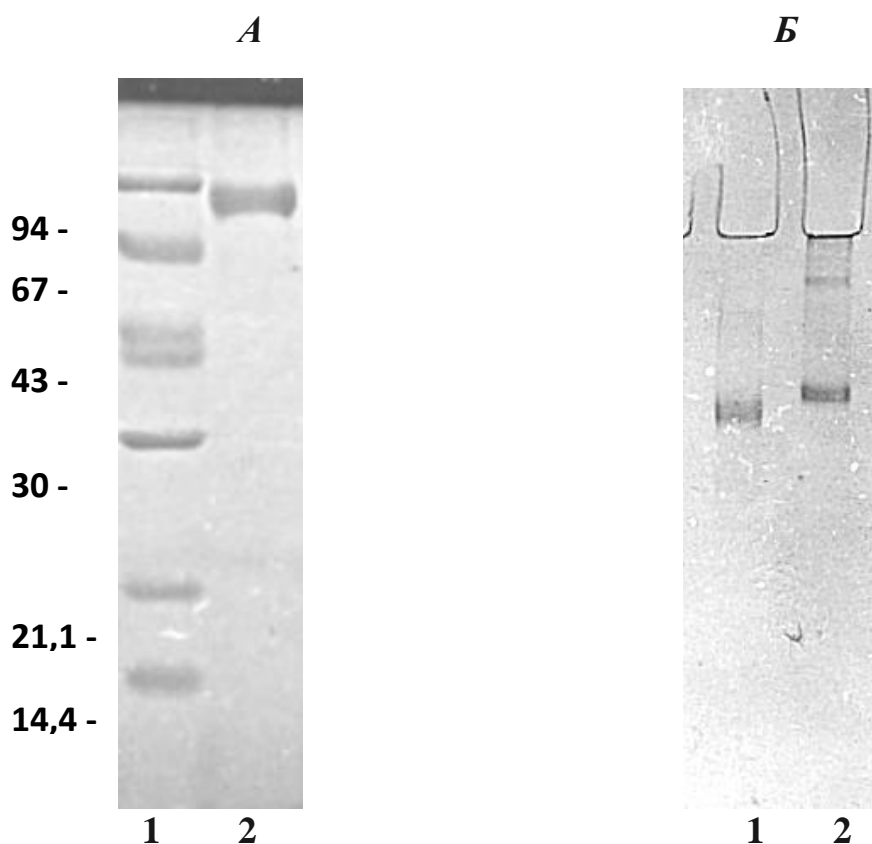


Рис. 2.1. А – Електрофореграма препаратів Пг в 8% ДС-На-ПААГ за присутності β -меркаптоетанолу: 1 – протеїнові маркери (94, 67, 43, 30, 21,1;

14,4 кДа), 2 – Пг людини. **Б** – Електрофореграма препаратів 1 – Ліз-Пг, 2 – Глу-Пг в 10% ДС-На-ПААГ рН 3,2.

Одержання плазміну.

Для активації плазміногена до плазміну було обрано метод з використанням іммобілізованої урокінази. Використання іммобілізованого активатора, завдяки його багаторазовості, значно спрощує та здешевлює методику. Окрім того, за такого підходу не потрібна додаткова очистка одержаного препарату плазміну від домішок активатора чи активаційних комплексів.

Плазмін одержували з препаратів Глу-плазміногена за стандартною методикою [220] з використанням іммобілізованої на BrCN-сефарозі 4В урокінази. Плазміноген інкубували з іммобілізованою урокіназою протягом 1 години при температурі 37°C у 0,05 М трис-НСІ буфері, рН 7,4 з вмістом 0,15 М NaCl, 25% гліцерину. Зберігали препарат плазміну в гліцерині, розведеному до концентрації від 25% до 50%, при температурі -18°C.

Виділення та характеристика фібриногену.

Фібриноген виділяли з оксалатної плазми крові людини шляхом висолювання сульфатом натрію. Фібриноген очищали від домішок плазміногена, обробляючи розчином лізину з наступним спиртовим переосадженням протеїна, чи афінною хроматографією на лізин-сефарозі [5]. Вміст фібриногену, що згортався під дією тромбіну, становив 96-98 %.

Препарати фібриногену були електрофоретично гомогенними за даними електрофорезу у 10% ПААГ (рис. 2.2). Одержані препарати зберігали при -20°C.

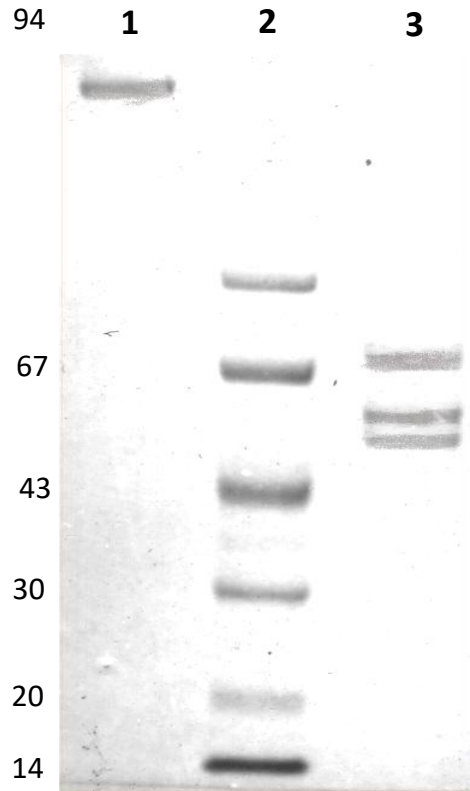


Рис. 2.2. Електрофореграма препаратів фібриногену. 1 – Фг людини за відсутності відновлюючого агента β -меркаптоетанолу; 2 – молекулярні протеїнові маркери; 3 – Фг людини за присутності відновлюючого агента β -меркаптоетанолу.

Визначення кількості молекул середньої молекулярної маси.

Для отримання фракції молекул середньої молекулярної маси, а також визначення їх вмісту в тканині використовували метод за Ніколайчиком [21]. При проведенні досліду, всі маніпуляції проводилися на льоду, та на кожному кроці проводилася інкубація впродовж 15 хв. Високомолекулярні комплекси в біологічних матеріалах осаджували застосуванням 1,2 М HClO_4 (співвідношення 1:1), на наступному етапі центрифугували при 5000 g впродовж 20 хвилин. Надосад нейтралізували застосуванням 5М KOH до рН 7,0, а потім суміш знову центрифугували, але вже при 2500 g впродовж 20 хвилин. Потім вносили етанол до фінальної концентрації 80%, та знову центрифугували при наступних умовах: 2500 g, 15 хвилин. Далі проводили вимірювання оптичної щільності на спектрофотометрі при довжині хвилі 210,

238, 254 нм. Довжини хвиль, на яких вимірювали оптичну густину використовуються для дослідження пептидів: 210 нм – це є максимумом поглинання пептидних зв'язків, 238 нм – амінопептидна фракція або низькомолекулярні пептиди, 254 нм – пептидна фракція у складі молекул середньої та низької маси.

Отримання фракції пептидного пулу плазми крові.

Виділення пептидного пулу проводилося за методом Ніколайчик [21]. Всі операції проводилися на льоду. Після кожної маніпуляції проби витримували протягом 15 хв.

Плазму розморозували прогріванням на водяній бані (37 °С) протягом 20 хв, після чого розмішували обережним перевертанням пробірки та негайно поміщали на лід. Плазму осаджували у співвідношенні 1:1 1,2 М HClO₄ і центрифугували 15 хв за 10 тис. обертів/хв. На наступному етапі надоосадову рідину нейтралізували 5 Н КОН до рН 7,0. Суміш перемішували і центрифугували протягом 15 хв за 10 тис. обертів/хв. Надоосадову рідину переносили в мікропробірки і додавали у співвідношенні 1:5 96 % етиловий спирт і центрифугували протягом 15 хв за 10 тис. обертів/хв.

Очищення пептидного зразка від високомолекулярної фракції протеїнів.

Для очищення розчиненого зразка пептидного пулу від залишків високомолекулярних протеїнів використовували протеїнові концентратори – ультрафільтраційні пристрої для центрифугування з полієфірсульфоною мембраною, що застосовуються для відділення молекул менше 10 кДа і можуть бути застосовані для зразків від 5 до 20 мл. Центрифугували зразок пептидного пулу протягом 40 хв при 2000 обертів/хв.

Діаліз.

Пептидні зразки були розчинені у 0,1% розчині фосфатної кислоти або у буферному розчині Б, що можуть перешкоджати електрофоретичному аналізу та подальшому дослідженню пептидів. Для переведення пептидних

зразків у воду проводили діаліз. Метод базується на здатності низькомолекулярних речовин проходити через напівпроникну мембрану на відміну від пептидів та високомолекулярних протеїнів. Використовують діалізну мембрану, яка є полімером і має пори певної величини.

Для діалізу використовували напівпроникні мембрани SERVAPOR[®] з розміром пор 25 Å, через які пептиди не дифундували і залишалися всередині діалізного мішку. Молекули з меншим розміром проходили через пори діалізної мембрани і переходили у діалізат. Діаліз проводили проти води протягом 24 год, воду змінювали двічі.

Ліофілізація.

Пептидні зразки після діалізу заморожували при -20 °C перед проведенням ліофільного висушування. Проводили висушування зразків в замороженому стані під вакуумом, при цьому вода видаляється із заморожених об'єктів шляхом сублімації льоду, тобто перетворення його на пару, минаючи рідку фазу. Ліофільне висушування проводили протягом 6 год.

Статистична обробка результатів

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили, використовуючи комп'ютерні програми Origin 7.0, TotalLab 2.01. та Microsoft Excel. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

2.2.2. Гістологічні.

Для мікроскопічного дослідження забирали шматочки надниркових залоз у попередньо зважених тварин всіх груп. Шматочки фіксували в 10 % розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1 – 2 доби. Застосований фіксуючий розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини і тканини для їх подальшої обробки, та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. Виготовлені зрізи, товщиною 4 – 5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином, метиленовим-синім та проводили імпрегнацію сріблом за методом Гордона-Світса (для виявлення

базальних мембран, ретикулярних та незрілих колагенових волокон). Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів [17].

2.2.3. Морфометричні.

Морфометричний аналіз параметрів надниркових залоз щурів оцінював дві неперервні змінні:

площа мікроциркуляторного русла (виміряно площі відповідних судин у 8 зрізах надниркових залоз тварин всіх груп; в подальшому знаходили суми цих площ для кожного зрізу; для вимірювань використовувалось цифрові зображення, одержані під світловим мікроскопом за збільшенням $\times 1000$);

ядерно-цитоплазматичний індекс (в 40 клітинах на 4 зрізах від чотирьох тварин з кожної групи; визначався для клітин клубочкової та пучкової зон, що відповідають за синтез стероїдних гормонів; вимірювання проводились на цифрових зображеннях, одержаних зі світлового мікроскопа при збільшенні $\times 1000$).

Для оцінки впливу отрути двох видів гадюк на загальний стан статевих залоз щурів визначались:

площа поперечного перерізу звивистих каналців (вимірювання проводились для 40 поперечних перерізів звивистих каналців чотирьох тварин з 12-15 цифрових зображень для кожної з трьох груп, отриманих зі світлового мікроскопа на збільшенні $\times 200$; для вірного встановлення співвідношення між точками цифрового зображення та мікрометрами, при фотографуванні на зображення наносилась мірна шкала на 0,02 мм.

кількість сперматогоній на периферії звивистих каналців (використовувався плагін "Cell counter" в програмі Fiji:ImageJ; підрахунок здійснювався для кожної групи у 20 звивистих каналцях чотирьох тварин на 10 фотографіях з кожної на збільшенні $\times 400$).

Всі вимірювання проводились за допомогою програми Fiji:ImageJ та оброблялись в Excel.

РОЗДІЛ 3

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ *VIPERA BERUS* *BERUS*

Звичайні гадюки, рід *Vipera*, включають 21 різний вид і безліч підвидів. Таксономічне різноманіття також відображається і в складі їх отрути. Цей рід має найвищий рівень багатого цистеїном секреторного протеїна (CRISP) (6%) і найнижчий рівень дезінтегринів (DI) (>1%) серед усіх *Viperidae*, і хоча деякі представники мають високий вміст SVMP, інші багаті PLA2, SVSP або CRISP. Крім цього, деякі види демонструють високі композиції отрути на основі PLA2, наприклад, *Vipera ammodytes montandoni* та *Vipera transcaucasiana* (45–52 %; наприклад, варіанти *Vaspin*, *Vipoxin* та *Ammodytin*), з високим рівнем судинного ендотеліального фактора росту F (VEGF) (10–11 %), що нагадує отруту *D. siamensis*. Проте обидва сімейства токсинів менш поширені в інших п'яти протеомах. Цікаво, що кількість SVMP зростає зі зниженням рівня PLA2, і для обох *Vipera berus berus* протеомес спостерігається збільшення вмісту SVSP. З іншого боку, дві отрути *V. anatolica* примітні своїм багатим складом CRISP (10–16%), низьким вмістом L-AAO та відсутністю VEGF [78].

Vipera berus nikolskii – вид з родин *Vipera*, який розповсюджений у широколистяних лісах України, Східної Румунії, Молдови. В Україні вид охороняється, як рідкісний або зникаючий. Протеїновий склад отрути представлений PLA2 (65 % від сухої маси, один з найвищих показників серед отруйних змій) та сериновими протеїназами (19%) [232]. *Vipera berus nikolskii* та *Vipera berus berus* дуже близькі філогенетично види, інколи *Vipera berus nikolskii* вважають підвидом *Vipera berus berus*. Але склад отрут цих двох видів відрізняється, наприклад, в отруті *Vipera berus nikolskii* виявлено дві гетеродимерні фосфоліпази A2, яких нема в *Vipera berus berus* [119]. За допомогою поєднання рідинної хроматографії з мас-спектрометрією було

дослідженно кількісний склад отрут видів роду *Vipera*, та ідентифіковано 124 протеїна у *Vipera renardi* та 111 у *Vipera berus nikolskii*. Виявлені протеїни відносяться до 14 відомих родин протеїнів отрут. Більше всього було виявлено фосфоліпаз PLA2, з яких переважають ферменти підгрупи D49, що належить до групи ІА. Надродина протеїнів PLA2 включає ферменти, основна функція яких полягає у гідролізі гліцерофосфоліпідів у sn-2 положенні з утворенням жирних кислот і лізофосфоліпідів. В отруті *Vipera berus nikolskii* виявлено тільки ці PLA2. В отруті ж *Vipera renardi* було виявлено також в значній кількості фермент з підгрупи S49 та протеїни груп ІА та ІІЕ. Отрута *Vipera berus nikolskii* містить значну кількість фосфоліпаз (більше 60%), а SVMР досить мало (менше 1 %), LAAO взагалі менше 0,1%. Ферменти складають 85% від усіх протеїнів отрути *Vipera berus nikolskii*. В отруті ж *Vipera renardi* вміст SVMР на порядок вище – 12 %, L-АКО складає 4%, PLA2 – 44%. SP найменше в отруті цього виду – 8%. До протеїнів, які не володіють ферментативною активністю належать Dis (13% в отруті *Vipera renardi*) та VEGF (8 % у *V. nikolskii*) [193].

Vipera berus berus (Гадюка звичайна) – найпоширеніший вид роду *Vipera*, ареал охоплює Європу та Азію [47]. Протеом отрути *Vipera berus berus* складає приблизно 25 протеїнів та пептидів, які відносяться до 11 родин протеїнів. Найбільше всього представлено фосфоліпаз (майже 60% від загальної кількості фосфоліпідів). Також ідентифіковані серинові протеїнази, L-амінокислотні оксидази тощо. Для протеїнів отрути *Vipera berus berus* (як і для всієї родини *Viperidae*) характерна сильна пострасляційна модифікація [122]. В дослідженні Восіан із співавторами з допомогою двовимірного електрофорезу та мас-спектрометрії MALDI-TOF було проведено аналіз зразків отрути *Vipera berus berus* (змішаної від чоловічих та жіночих особин, яких виловили у природньому середовищі у Словацькій республіці). Розділяли отруту в 2 діапазонах рН – вузькому (5-8) та ширшому (3-10). Найбільша кількість протеїнів мала ізоелектричну точку при рН 5-8 та невелика частина з малою масою (менше 20 кДа) не входили у вузький діапазон рН.

Всі проведені дослідження показують потенційний вплив компонентів отрути на протеїновий метаболізм організму, який зазнав впливу отрути. І цей вплив може бути системним та переважна більшість органів може бути мішенями цього впливу. Зрозуміло, що є центральні органи-мішені та ті, які можуть зазнавати впливу в меншому ступені за рахунок своєї локалізації та функціональному призначені в організмі. Але не варто забувати, що потенційна гіперактивація таких систем, як протеолітична, може призводити як до появи нетипових молекул протеїнового походження, так і провокувати запуск неконтрольованих біохімічних процесів в органах та системах організму, що в свою чергу може призводити до патологічних змін у їх функціонуванні та змін у метаболізмі всього організму. Зважаючи на це, ми в нашому дослідженні зробили спробу проаналізувати, як зміїна отрута гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* потенційно може впливати на компоненти протеолітичного балансу у таких органах, як надниркові залози та сім'яники, тому що компонентами протеолітичних систем переважно є протеїнові молекули, вплив на які напряму чи/або опосередковано показують дані літератури, але тільки в загальному підході, не конкретизуючі потенційні органи-мішені даного впливу компонентів отрути.

Першим етапом нашої роботи ми визначили концентрацію загального протеїна в досліджуваних органах за впливу цих отрут (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Концентрація загального протеїна в досліджуваних органах за впливу отрут гадюк гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii* (мг/г тканини)

	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
Надниркові залози	68,76±0,87	62,59±1,61*	61,27±0,44*
Сім'яники	69,54±0,32	67,59±0,61*	65,27±2,44*

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі.

Як видно з представлених даних, вплив досліджуваних отрут проявляється у зниженні рівня загального протеїна в надниркових залозах. Обидві отрути показують негативний вплив на вміст загального протеїна, що можливо, може бути обумовлено посиленням деградаційних процесів в цьому органі, гіперактивації систем протеолізу та зрушення рівноваги в бік посилення катаболічних процесів. Отрута з *Vipera berus nikolskii* виявляла більш виражений ефект на вміст загального протеїна в тканині надниркових залоз, що може говорити про більш потужні ефекторні молекули, які наявні в цій отруті, та які здатні більш ефективно ініціювати запуск каскадних реакцій, що в кінцевому вигляді призводять до зниження загального вмісту протеїну у тканині надниркових залоз.

Що стосується результатів потенційного впливу досліджуваних отрут на концентрацію загального протеїна в сім'яниках, то як видно з даних (табл. 3.1) отрута *Vipera berus berus* знижує загальний вміст протеїна на 3 %, а отрута *Vipera berus nikolskii* – на 7 %, що показує певний вплив на цей показник в даному органі. Це, в свою чергу, свідчить про патологічну активацію протеолітичних систем, які задіяні в деградації протеїнових молекул, або в змінах в білок-синтетичних процесах в даному органі. Другу причину можна вважати сумнівною, тому що для змін в синтезі протеїна необхідно задіяти певні процеси на різних рівнях, і ці процеси мають трохи довший термін часу, ніж даний експеримент. Але для отримання більш точної інформації, яка дозволить пояснити причини зниження загальної кількості протеїна в обох досліджуваних органах, необхідно більш детально дослідити функціонування компонентів систем протеолізу, які наявні в цих органах.

Отримані результати вмісту загального протеїна в тканині надниркових залоз показують певну перспективність та доцільність аналізу якісного протеїнового складу даної тканини при впливі на неї досліджуваних зміїних отрут. Це може показати направлення змін у протеїновому метаболізмі даної

тканини та прояснити ситуацію зі зменшенням загального вмісту протеїна у тканині.

Наступним етапом нашої роботи є аналіз протеїнового профілю в досліджуваних органах, дані якого можуть показати, яка з потенційних гіпотез правильна та напрямок досліджень потенційних порушень функціонування протеїнових молекул в органах-мішенях.

Для дослідження протеїнового профілю в надниркових залозах та сім'яниках тварин, яким вводили зміїну отруту, зразки тканин аналізували за допомогою диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі з додаванням додецил сульфату натрію (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Якісний склад протеїнових молекул в досліджуваних тканинах за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*

	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
Надниркові залози						
≥ 150 кДа	-	-	14,01	1	—	—
150-100 кДа	7,37	1	-	-	—	—
100-67 кДа	9,05	1	-	-	21,27	3
67-35 кДа	33,41	1	12,89	1	27,76	3
35-10 кДа	50,18	5	73,1	3	33,08	2
≤ 10 кДа	-	-	-	-	17,88	2
Сім'яники						
≥ 150 кДа	-	-	-	-	—	—
150-100 кДа	19,34	2	12,74	1	9,08	1
100-67 кДа	10,58	1	5,92	1	14,48	3

67-35 кДа	27,87	1	25,23	1	32,16	2
35-10 кДа	42,21	3	41,93	2	29,95	2
≤ 10 кДа	-	-	14,18	1	14,33	1

Наші результати виявили деякі зміни в складі протеїнів, які були більш вираженими у щурів, яким вводили отруту *Vipera berus nikolskii*. Результати показують певний перерозподіл протеїнових фракцій у бік низькомолекулярних, що на пряму підтверджує прогресування протеолітичних процесів в надниркових залозах та появу фрагментів протеїнових молекул. При дії отрути *Vipera berus berus* ми спостерігаємо появу протеїнових молекул в діапазоні 150 та вище кДа, що може свідчити тільки про те, що за дії даної отрути утворюються ковалентні комплекси певних деградованих протеїнів, а можливо й ферментами з інгібіторами, які ми можемо виявити цим методом. В той же час, ми не бачимо появи аналогічних фракцій за дії іншої отрути, що свідчить про те, що дія цих отрут на надниркові залози є різною за рахунок присутності різних молекул у складі цих отрут. Або інтенсивність дії у досліджуваних отрут різна за рахунок наявності певних факторів, що обумовлює показану різницю у дії цих факторів на процеси метаболізму протеїнових молекул. Загальна тенденція за дії обох отрут – збільшення низькомолекулярних фракцій протеїнових молекул, поява протеїнових молекул в діапазоні ≤ 10 кДа за дії обох отрут в сім'яниках, та за дії *Vipera berus nikolskii* в надниркових залозах. Зважаючи на молекулярний діапазон та на те, що в контрольних зразках ми не виявили протеїнових смуг в даному діапазоні молекулярних мас, можна стверджувати, що це пептидні молекули, які утворились за дії протеолітичних систем в досліджуваному органі. Ці дані свідчать про посилення деградаційних процесів в надниркових залозах та сім'яниках за дії компонентів отрути на пряму та/або опосередковано, проявляючи гіперактивуючий ефект на протеолітичні механізми, які існують в даних досліджуваних органах.

Отримані результати по кількості загального протеїну та виявлена тенденція до перерозподілу протеїнових фракцій у бік зменшення

молекулярної маси показують доцільним спробувати оцінити якісний склад активних протеолітичних ферментів в досліджуваних тканинах для того, щоб розуміти, чи відбувається перепозподіл активних протеолітичних молекул та характер цього перерозподілу. Інформація, отримана таким чином, може дозволити оцінити інтенсивність протеолізу в тканині надниркових залоз та сім'яників щурів, яким вводили отруту гадюк гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*. Ідентифікацію активних протеаз проводили за допомогою зимографії, яка є простим і чутливим методом. В якості субстратів використовували желатин, фібриноген та колаген. Ці протеїни було обрано в якості субстратів, тому що переважна більшість протеолітичних ферментів в тканинах має до них певну специфічність, що дозволяє охопити максимально усі протеолітичні каскади органів.

Аналіз даних наявності активних протеолітичних ферментів з різною субстратною специфічністю в тканині надниркових залоз наведено в таблицях 3.3, 3.4 та 3.5.

Таблиця 3.3

Якісний склад активних протеаз в тканині надниркових залоз за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат желатин)

	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
≥ 150 кДа	--	--	--	--	--	--
150-100 кДа	--	--	--	--	--	--
100-67 кДа	25,49	2	66,5	3	56,18	3
67-35 кДа	57,06	2	18,47	4	20,42	4
35-10 кДа	17,45	1	15,03	1	23,40	1
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Аналіз впливу компонентів досліджуваних отрут на потенційний перерозподіл активних ферментів, які розщеплюють желатин, показав появу більшої кількості активних зон протеолітичної активності за дії досліджуваних отрут в діапазонах молекулярних мас - 100-67 кДа та 67-35 кДа. Це може свідчити про підвищення активності певних протеолітичних ферментів за дії отрут в даному органі, які за фізіологічних умов або неактивні, або їх активність знаходиться нижче порогового значення, яке можливе дослідити за допомогою даного методу. Можлива поява деградованих форм активних ферментів, які ми детектуємо в контрольному зразку, за рахунок активації протеолітичних процесів, порушення певних процесів, пов'язаних з метаболізмом протеїнових молекул. Ці деградовані форми мають активний центр та можуть виконувати свої функції ферменту, але враховуючи певну ступінь деградації протеїнової молекули, ми можемо говорити про певну субстратну зміну цих молекул. Ці процеси не можуть бути контрольовані тому, що ми маємо ситуацію, коли молекула ферменту піддається деградації нефізіологічним шляхом і ця деградація супроводжується зберіганням активності цього ферменту. Це, в свою чергу, може провокувати певний перерозподіл в біохімічних процесах, в яких можуть бути задіяні дані ферменти та появу нових, неспецифічних для фізіологічного стану даних ферментів субстратну специфічність, яка в свою чергу може провокувати запуск та активацію тих біохімічних процесів, які за фізіологічного стану даного органу не є активними. В зоні 35-10 кДа ми спостерігаємо незначне відхилення активності досліджуваних ферментів від контрольних зразків.

Ферменти, які можуть розщеплювати фібриноген, переважно знаходяться в кровотоці і це зрозуміло, тому що цей субстрат також переважно там знаходиться. Тому, виявлення активних ферментів, субстратна специфічність яких включає фібриноген в тканинах, показує наявність патологічних змін в протеолітичних процесах. Ці зміни можуть бути пояснені або появою активних ферментів з субстратною

специфічністю по відношенню до фібриногену, або з появою деградованих/аномальних молекул ферментів, субстратна специфічність яких змінилась по відношенню до цієї молекули.

В таблиці 3.4 представлені дані по аналізу протеолітичної активності в тканині надниркових залоз по відношенню до фібриногену в якості субстрату.

Таблиця 3.4

Якісний склад активних протеаз в тканині надниркових залоз за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат фібриноген)

Фібриноген	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
≥ 150 кДа	--	--	--	---	---	---
150-100 кДа	--	--		---	--	--
100-67 кДа	--	--	---	--	---	---
67-35 кДа	--	--	56,73	1	39,55	1
35-10 кДа	--	--	43,27	1	61,45	1
≤ 10 кДа	--	--	---	--	--	--

Аналіз отриманих даних показує повну відсутність або активність таких ферментів на рівні, які не можливо оцінити за допомогою даного методу, по відношенню до фібриногену в якості субстрату для ферментів пептидаз. В той же час, введення досліджуваних отрут показало появу певної кількості активних молекул в діапазоні молекулярних мас - 67-35 кДа та 35-10 кДа, що показує патологічні зміни в процесах протеолізу даної тканини.

В таблиці 3.5 показано результати аналізу присутності активних протеолітичних ферментів з субстратною специфічністю по відношенню до колагену. Отримані дані показують певний перерозподіл активних зон ферментів по молекулярній масі за дії обох досліджуваних отрут. Характер

даного перерозподілу може свідчити про появу деградованих форм ферментів з такою субстратною специфічністю як результат процесів, що були ініційовані дією компонентів досліджуваних отрут. Також виявлене збільшення активності певних ферментів може говорити також про патологічне посилення протеолітичних процесів, результатом якого є поява аномально високих активностей певних ферментів, що мають субстратну специфічність по відношенню до колагену.

Таблиця 3.5

Якісний склад активних протеаз в тканині надниркових залоз за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат колаген)

Колаген	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
≥ 150 кДа	--	--	--	--	--	--
150-100 кДа	15,0	1	2,6	1	4,7	1
100-67 кДа	47,5	1	17,2	1	26,1	1
67-35 кДа	26,7	4	61,8	4	51,3	4
35-10 кДа	10,8	1	18,4	2	17,9	2
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Дослідження аналогічних активностей ферментів по даним 3 субстратам в тканині сім'яників представлено в таблицях 3.6, 3.7 та 3.8.

Таблиця 3.6

Якісний склад активних протеаз в тканині сім'яників за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат желатин)

	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій

≥ 150 кДа	--	--	--	--	--	--
150-100 кДа	--	--	--	--	--	--
100-67 кДа	15,32	1	43,71	2	53,99	3
67-35 кДа	65,14	2	36,91	2	19,42	1
35-10 кДа	19,54	1	19,38	1	26,59	2
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Таблиця 3.7

Якісний склад активних протеаз в тканині сім'яниках за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат фібриноген)

Фібриноген	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
≥ 150 кДа	--	--	--	---	---	---
150-100 кДа	--	--	--	---	--	--
100-67 кДа	--	--	47,63	1	45,98	1
67-35 кДа	--	--	52,37	1	54,02	1
35-10 кДа	--	--	--	--	--	--
≤ 10 кДа	--	--	---	--	--	--

Таблиця 3.8

Якісний склад активних протеаз в тканині сім'яниках за впливу отрут гадюк гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* (субстрат колаген)

Колаген	Контроль		<i>Vipera berus berus</i>		<i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій	Band %	К-сть фракцій
≥ 150 кДа	--	--	--	--	--	--
150-100 кДа	--	--	--	--	--	--
100-67 кДа	44,61	1	15,65	1	29,32	1
67-35 кДа	36,07	2	71,8	3	61,67	3
35-10 кДа	19,32	1	12,55	1	9,01	1
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Аналіз даних по усім досліджуваним субстратам показав аналогічний результат тканини надниркових залоз. Отримані дані показують значний перерозподіл та посилення активності протеолітичних ферментів по усім 3 субстратам. Це свідчить про те, що в даному органі за дії обох отрут відбувається патологічна активація протеолітичних шляхів різного спрямування, і це призводить до зменшення кількості загального протеїна та може бути причиною ініціації різноманітних біохімічних процесів, що не характерні для фізіологічного стану функціонування досліджуваного органу. Аналіз електрофореграм, де в якості субстрату використовували фібриноген, показав появу за дії обох досліджуваних отрут певної кількості активних протеолітичних ферментів різної молекулярної маси, але в контролі ми не спостерігаємо жодної з них. Це свідчить про або появу активних протеолітичних ферментів зі субстратною специфічністю до фібриногену, протеїну, який не є позасудинним протеїном та його поява в тканинах практично не можлива без значних патологічних змін в організмі, або, що найбільш ймовірно, ми бачимо появу у нативних ферментів та можливо їх деградованих форм часткове змінення субстратної специфічності як результат дії компонентів обох отрут. На прикладі використання фібриногену це видно однозначно, але аналіз інших субстратів показує певний перерозподіл молекулярних мас активних протеолітичних ферментів, що підтверджує дану

гіпотезу про те, що з'являються деградовані форми ферментів, в яких активний центр не пошкоджено, але внаслідок часткового руйнування структури протеїнової молекули все ж таки відбувається зміни у субстратній специфічності та силі взаємодії ферменту з потенційними субстратами. В свою чергу, утворення таких деградованих форм може призводити до ініціювання певних, неконтрольованих та неохарактеризованих (за даних умов) біохімічних процесів, як в даному органі, так і в цілому організмі, що може призводити до ще більшої патологічної ситуації, пов'язаної з впливом досліджуваних отрут на організм щурів.

Отримані дані по патологічній активації протеолітичних процесів в досліджуваних органах, перерозподілу протеїнових фракцій та загального вмісту протеїна в досліджуваних тканинах показує появу значного дисбалансу молекул протеїнового походження в даних органах. Характер такого дисбалансу показує потенційний перерозподіл в низкомолекулярних молекулах, маса яких лежить в діапазоні від 5 кДа та нижче, та які свідчать про розвиток стану ендогенної інтоксикації в досліджуваному органі і цей стан може негативно вплинути на повноцінне функціонування цих органів. Поява пептидних молекул даного діапазону молекулярних мас може свідчити про появу принципово нових, неспецифічних для фізіологічного стану функціонування даних органів, ліганд-рецепторних взаємодій на рівні органу та цілого організму, та як результат, запуск неконтрольованих біохімічних процесів різного спрямування. Це в свою чергу може призводити до розвитку різноманітних неконтрольованих патологічних процесів, як на рівні окремого органу так і цілого організму. Щоб з'ясувати, чи призвело введення отрути *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* до розвитку стану ендогенної інтоксикації в надниркових залозах та сім'яниках, оцінювали рівень низкомолекулярних речовин (НМР) (табл. 3.9).

Аналіз низькомолекулярних речовин в тканині досліджуваних органів за впливу отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*

	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
Надниркові залози			
210 нм	12,89±0,16	16,34±1,08*	19,07±1,35*
238 нм	1,12±0,06	4,27±1,14*	12,27±1,47*
254 нм	0,39±0,10	3,81±1,12*	8,63±0,85*
Сім'яники			
210 нм	11,44±0,13	14,56±1,65*	17,23±0,21*
238 нм	1,14±0,03	5,11±0,87*	11,33±0,71*
254 нм	0,51±0,09	2,14±0,33*	7,23±0,17*

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі.

Аналіз отриманих даних показує значне підвищення усіх видів низькомолекулярних молекул в досліджуваних органах за дії отрут *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*, що свідчить про значний розвиток ендогеної інтоксикації та показує утворення великої кількості пептидних молекул з молекулярною масою нижче 5 кДа, які можуть бути новими сигнальними молекулами за даних умов та провокувати появу неконтрольованих та нетипових біохімічних процесів як в досліджуваному органі, так і в цілому організмі.

Отримані дані показують, що дія отрут *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* на досліджувані органи полягає в патологічній активації протеолітичних процесів, перерозподілу протеїнових фракцій, появи протеїнових молекул зі зміненими субстратними специфічностями та пептидних молекул, які можуть бути принципово новими лігандами в складній сигнальній системі організму. Поява деградованих форм ферментів та потенційна зміна їх субстратної специфічності може також бути тим тригером,

який запускає певні патологічні процеси на рівні біохімічних каскадів як досліджуваних органів, так і на рівні цілого організму. Зважаючи на важливість правильного функціонування досліджуваних органів для цілого організму, можна стверджувати, що дія досліджуваних отрут призводить до значної зни у функціонуванні даних органів, що може мати вплив на цілий організм за різними метаболічними каскадами, в тому числі і тими, що не мають відношення до гідролітичних ферментів, які є компонентами систем протеолізу різних тканин організму.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті журналу (США), що відноситься до наукометричної бази Scopus [161] та одних тезах науково-практичної конференції [22].

РОЗДІЛ 4
МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ
НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ
VIPERA BERUS

4.1 Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів контрольної групи тварин

Клубочкова зона кори надниркових залоз з контрольної групи не виявляє ознак патології. Клітини утворюють тісно розташовані один до одного округлі кластери (рис. 4.1А). Форма ядер дещо різниться від овальної до округлої, вони мають чіткі межі, ядерця також є чітко окресленими на фоні світлого ядра з переважанням еухроматину. В більшості клітин відзначається одне ядерце. Цитоплазма слабо ацидофільна. Клітини також характеризується значним рівнем вакуолізації, пов'язаної з наявністю включень ліпідної природи які є основою для синтезу цієї зоною мінералкортикоїдів, що мають стероїдну основу. Адже саме холестерол виступає основою для синтезу гормонів кори надниркових залоз.

Елементи строми представлені сполучною тканиною з еозинофільними колагеновими волокнами та фібробластами, що характеризуються сплосченим темним ядром та незначною зоною еозинофільної цитоплазми довкола нього. Описуючи васкуляризацію даної зони, варто відмітити присутність еритроцитів у синусоїдних капілярах. При цьому еритроцити є поодинокими та не утворюють скупчень, не закупорюють синусоїди.

Клітини в *zona fasciculata* розташовані стовпчиками і характеризуються округлими ядрами (рис. 4.1Б) і ацидофільною

цитоплазмою. Клітини упаковані щільно одна до одної і мають форму від округлої до полігональної. Ядра інтенсивно базофільні з вираженою зернистістю, іноді спостерігається перинуклеарна вакуолізація. Цитоплазмі також притаманна вакуолізація, обумовлена ліпідними включеннями, хоча дещо менше виражена, ніж у клубочковій зоні. Добре розвинена мережа капілярів забезпечує надходження синтезованих тут глюкокортикоїдів в кров. У синусоїдах видно еритроцити.

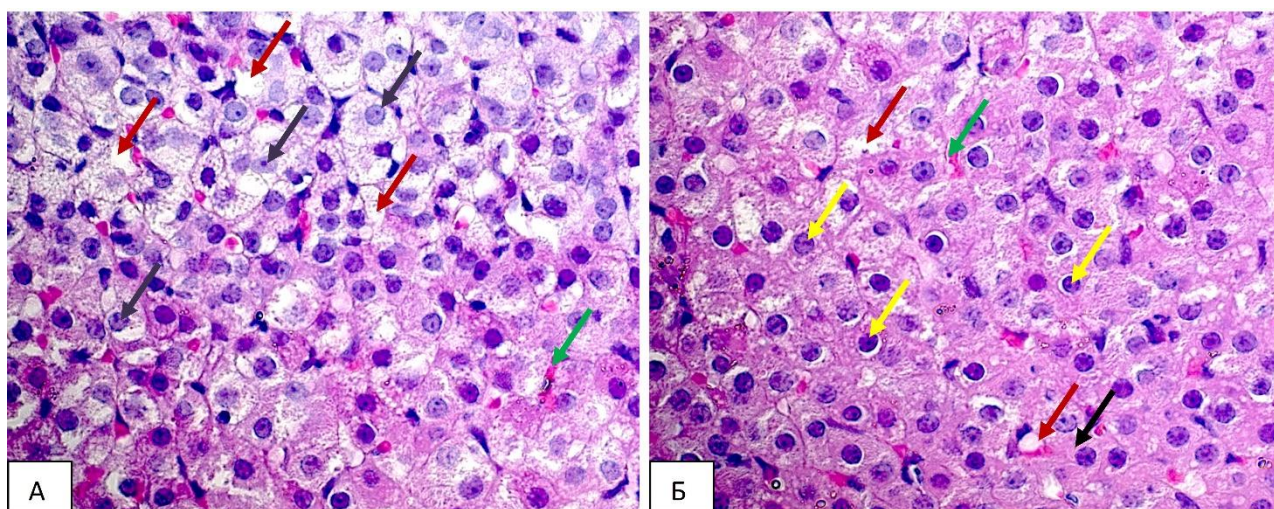


Рис. 4.1. Клубочкова (А) та пучкова (Б) зони кори надниркових залоз щурів з контрольної групи. А: ядра овальної та округлої форми (сірі стрілки). Б: округлі ядра (жовті стрілки); ацидофільна цитоплазма (чорна стрілка). А, Б: еритроцити у капілярах (зелені стрілки); вакуолізація цитоплазми (червоні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином $\times 1000$.

Сітчаста зона надниркових залоз тварин з контрольної групи. Клітини дещо дрібніші ніж у стовпчастій зоні, полігональної форми; ці клітини мають округлі ядра та ацидофільну цитоплазму (рис. 4.2А). Цитоплазматична вакуолізація, яка спостерігається в цих клітинах, є дещо менш вираженою, ніж у інших зонах. Високий рівень васкуляризації сприяє надходженню в кров стероїдних гормонів (глюкокортикоїдів та надниркових андрогенів), що виробляються в цій зоні. Синусоїди розширені, їх просвіти заповнені скупченнями еритроцитів. Більший порівняно з іншими зонами кіркової речовини діаметр синусоїдів визначається їх подальшим впаданням в венозні

канали, які забезпечують відтік крові, збагаченої гормонами, з надниркових залоз.

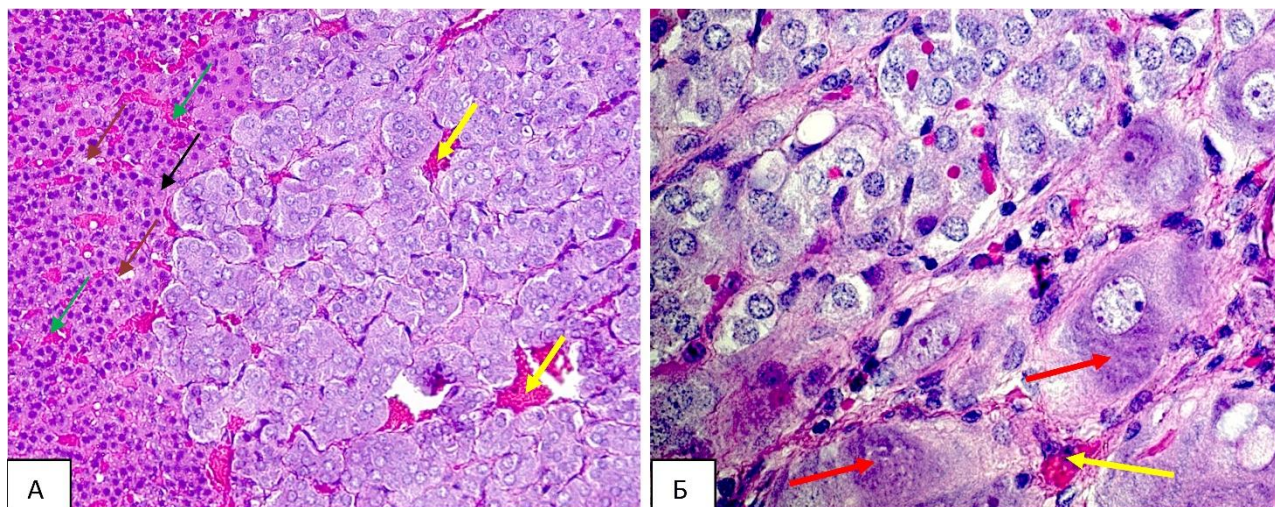


Рис. 4.2. Сітчаста зона кіркової (А) та мозкова речовина (А, Б) надниркових залоз щурів з контрольної групи. А: еозинофільна цитоплазма (чорна стрілка); цитоплазматична вакуолізація (коричневі стрілки). Б: зона гранулярної ЕПС біля ядра (червоні стрілки). А, Б: венозні канали зі зкупченням еритроцитів в них (жовті стрілки). Забарвлення гематоксилином та еозином; А $\times 400$, Б $\times 1000$.

Мозкова речовина надниркових залоз тварин з контрольної групи містить крупні клітини з базофільною зернистою цитоплазмою без накопичених ліпідів (рис. 4.2А). Така структура і забарвлення цитоплазми визначаються функціональними особливостями клітин, що, на відміну від ендокриноцитів кіркової речовини, виробляють гормони протеїнової природи. Така функція забезпечується розвиненою мережею зернистої ендоплазматичної сітки, яка, завдяки наявності РНК, має кислу природу і забарвлюється гематоксилином. Мозкова речовина також характеризується наявністю значної кількості венозних каналів, які відводять кров від синусоїдів кіркової речовини, проходять через медулу і впадають у медулярну вену. Венозні канали характеризуються наявністю зупинень еритроцитів.

4.2. Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

Дослідження впливу отрут на морфологічні та морфометричні показники саме надниркових залоз визначаються роллю цих органів в метаболізмі організму та їх вразливістю до дії екзогенних отрут. Адже серед органів, що належать до ендокринної системи ссавців, саме надниркові залози є найбільш вразливими до хімічної травми, спричиненої токсичними речовинами. В межах залози кіркова речовина реагує на інтоксикацію гостріше за мозкову [75]. Сітчаста та пучкова зони, очевидно, є основною мішенню ксенобіотичних хімічних речовин. Кора надниркових залоз є вразливою до дії токсичних речовин через накопичення ліпідів у адренкортикальних клітинах, що дозволяє накопичувати ліпофільні сполуки, крім того саме тут наявні ферменти, з сімейства цитохрому P450 зокрема, що є здатними до біотрансформації хімічних речовин ксенобіотиків. Залежно від токсиканту біотрансформація може призвести до підвищення або зниження токсичності. Класи хімічних речовин, які, як відомо, є токсичними для кори надниркових залоз, включають коротколанцюгові аліфатичні сполуки, індуктори ліпідозу та амфіфільні сполуки. Ці сполуки часто спричиняють некроз, особливо в пучковій та сітчастій зонах, а також ліпідоз [141].

Встановлено, що широкий спектр хімічних речовин викликає функціональні ураження залози, що відображаються при морфологічному описі гістологічного матеріалу та морфометрії певних параметрів клітин. Деякі з уражень навіть є прив'язаними у своїй локалізації до конкретних анатомічних зон кори надниркових залоз, тож функціональні дефіцити, що є результатом таких вражень, залежать від фізіологічної ролі зони впливу.

Ще одним критерієм, що визначає вразливість певної зони надниркових залоз до якогось патогенного чинника, є їх метаболічна активація. Зокрема,

чотирихлористий вуглець (CCl_4) викликає адренкортикальний некроз, але лише найбільш наближеної до мозкової речовини зони залози – сітчастої. Очевидна причина локалізованого ефекту CCl_4 в корі надниркових залоз полягає в тому, що лише клітини сітчастої зони мають ферментативну здатність активувати CCl_4 , що призводить до перекисного окислення ліпідів і ковалентного зв'язування з макромолекулами в ендокриноцитах сітчастої зони. З іншого боку, антагоніст мінералокортикоїдів, спіронолактон, здатен спричинювати функціональні ураження кори надниркових залоз, обмежені середньою зоною залози, пучковою. Пояснення в цьому випадку також включає метаболічну активацію, адже лише пучкова зона перетворює спіронолактон у високореактивний метаболіт, який впливає на руйнування кількох ферментів, необхідних для синтезу стероїдних гормонів.

Такі результати вказують на те, що біоактивація відіграє вирішальну роль у механізмі дії різних токсичних агентів на кору надниркових залоз, що, відповідно, впливає на їх морфологічні та морфометричні характеристики, іноді зі специфічною локалізацією в певній зоні кори [110].

Також варто зазначити, що стани організму, пов'язана зі стресом, наприклад впливом токсинів, стимулюють мозкову речовину та кору надниркових залоз до посилення секреції катехоламінів і глюкокортикоїдів відповідно [177].

Клубочкова зона кори надниркових залоз щурів, що піддалися дії отрути гадюки *Vipera berus berus* виявляє ознаки помірних патологічних змін. Клітини паренхіми утворюють округлі скупчення, розділені елементами стромы. Ядра деколи втрачають чіткість контурів (рис. 4.3А), багато з них є гіперхромними, а ті, що зберігають світле забарвлення, характеризуються утворенням грудок гетерохроматину, що часто скупчуються під нуклеолою. Гіперхромні ядра, у свою чергу, мають нерівний контур з ознаками ранніх етапів каріопікнозу, що є логічною реакцією клітини на інтоксикацію. Цитоплазма ендокриноцитів характеризується вакуолізацією, в деяких ділянках профарбовується нерівномірно, їй також притаманна зернистість (рис. 4.3Г). Наявність такої

зернистості може бути пов'язана з протеолітичними процесами в цитоплазмі, що призводять до накопичення еозинофільних грудочок протеїна у цитоплазмі.

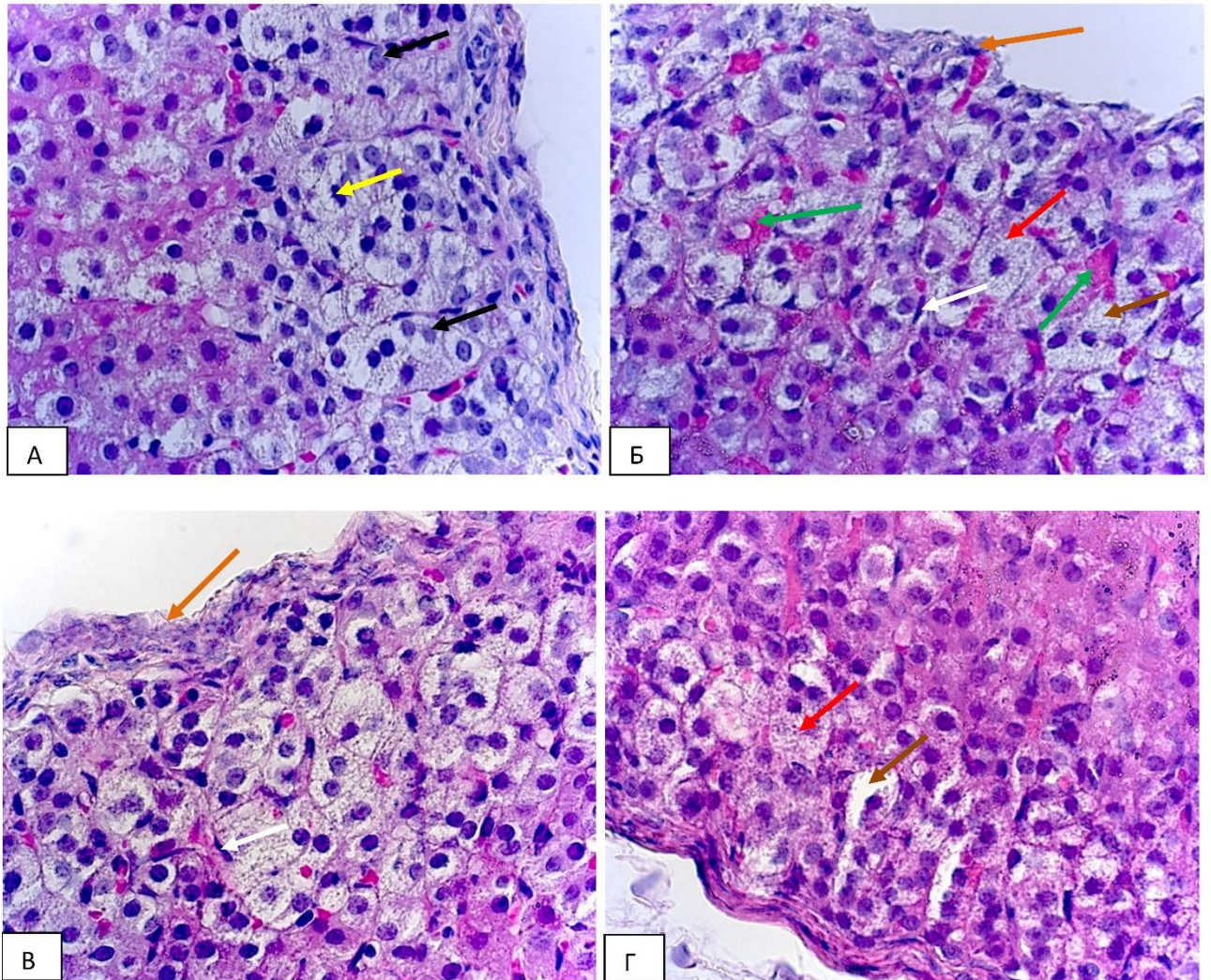


Рис. 4.3. Капсула та клубочкова зона надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: нечіткі та нерівні контури ядер (чорні стрілки); зморщені ядра (жовта стрілка). Б: скупчення еритроцитів та вакуолі в синусоїдах (зелені стрілки). Б, В: сплюснені ядра фібробластів (білі стрілки); розпушені колагенові волокна (помаранчеві стрілки). Б, Г: цитоплазматична вакуолізація (коричневі стрілки); зернистість цитоплазми (червоні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 1000$.

Стромальні елементи не піддаються відчутним змінам – ядра фібробластів є темними і сплюсненими, як у контрольній групі. Проте структура колагенових волокон капсули видається розрихленою та має нечіткі межі як клітин, так і позаклітинних елементів (рис. 4.3 Б, В).

Подібні зміни загалом притаманні стромальним елементам кори надниркових залоз при негативних впливах [177]. Якщо ж говорити про васкуляризацію, то на противагу до поодиноких еритроцитів, притаманних синусоїдним капілярам надниркових залоз тварин з контрольної групи, клубочкова зона з даної експериментальної групи характеризується скупченням агрегованих еритроцитів, що «забивають» собою просвіти синусоїдів та призводять до їх розширення (рис. 4.3Б). Також у просвітах судин відзначається наявність порожнистих вакуоль. Такі особливості у характеристиках мікроциркуляторного русла можна пояснити впливом зміної отрути на протеїни плазми крові, що може призводити до її коагуляції та агрегації формених елементів.

Пучкова зона кори надниркових залоз в щурів з даної групи характеризується наявністю стовпчиків інтенсивно еозинофільних клітин. Їх цитоплазмі притаманна яскраво виражена зернистість, межі клітин дещо втрачають чіткість та стають розмитими, в самій цитоплазмі спостерігаються розшарування у вигляді білих просвітів з нерівними краями на еозинофільному фоні, що не є звичайним виглядом ліпідних включень для подальшого синтезу гормонів. Зростає кількість перинуклеарних набряків, самі ядра інтенсивно профарбовуються, мають чіткі межі та регулярну форму з гладенькими межами без ознак зморщування. Між клітинами іноді спостерігається наявність досить крупних позаклітинних вакуолей (рис. 4.4А).

Синусоїдні капіляри у пучковій зоні, подібно до клубочкової, заповнені численними агрегованими еритроцитами, що призводить до розширення їх просвіту. Поодинокі еритроцити важко вирізнити, забарвлення агрегованих груп є нерівномірним. Між групами червоних клітин крові іноді також

спостерігаються вакуолі (рис. 4.4Б). Ядра фіброblastів інтерстицію лишаються сплющеними та темними.

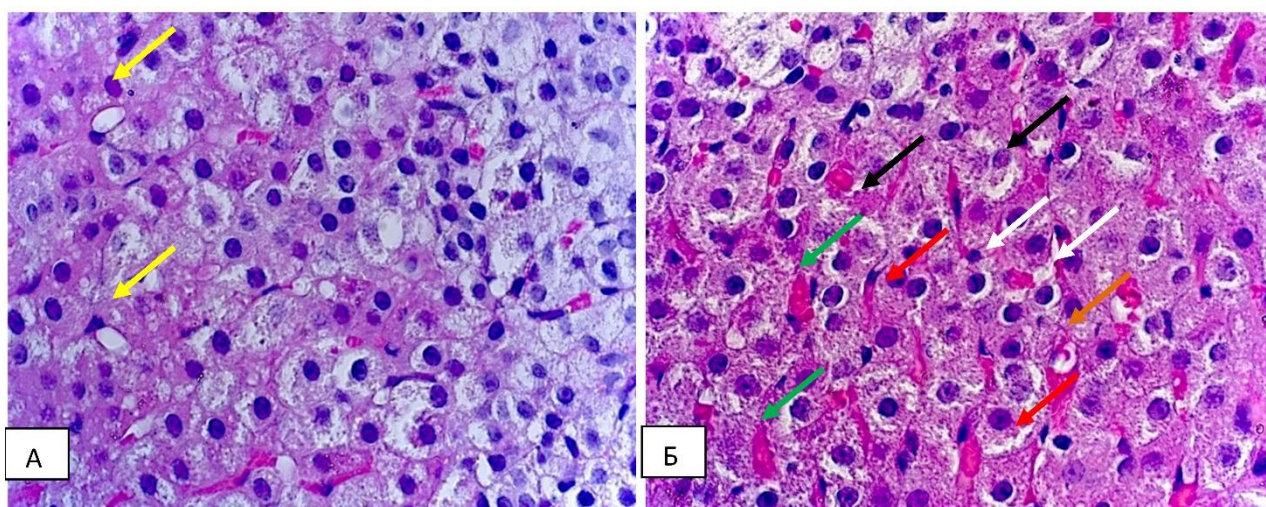


Рис. 4.4. Пучкова зона надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: позаклітинні вакуолі (жовті стрілки). Б: зернистість цитоплазми (червоні стрілки); просвіти в цитоплазмі (чорні стрілки); перинуклеарні набряки (білі стрілки); скупчення еритроцитів в синусоїдах (зелені стрілки); вакуоля в просвіті судини (помаранчева стрілка). Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 1000$.

В порівнянні з іншими зонами кори надринників тварин з даної експериментальної групи *сітчаста зона* зазнала найменших змін. Клітини характеризуються меншими розмірами, ніж у інших зонах, темними ядрами, що іноді мають витягнуту форму та еозинофільною цитоплазмою з незначними включеннями ліпідних вакуоль (рис. 4.5 А, Б).

Строма цієї зони характеризується наявністю фіброblastів з темними сплющеними ядрами, що є типовою характеристикою як для інших зон кори тварин з цієї групи, так і для групи контролю. Розширені судини прямують до крупних венозних синусів мозкової речовини.

Подібно до сітчастої зони, *мозкова речовина* надниркових залоз не зазнає значних змін під впливом отрути гадюки *Vipera berus berus*, що загалом

підтверджується даними літератури – кіркова речовина значно більш реактивно реагує на гостру дію отрути, ніж медула [75]. Клітинам притаманні крупні розміри, базофільна зернистість та нечіткі межі. Ядра є дуже світлими через переважання еухроматину та мають регулярні чіткі межі (рис. 4.5Б).

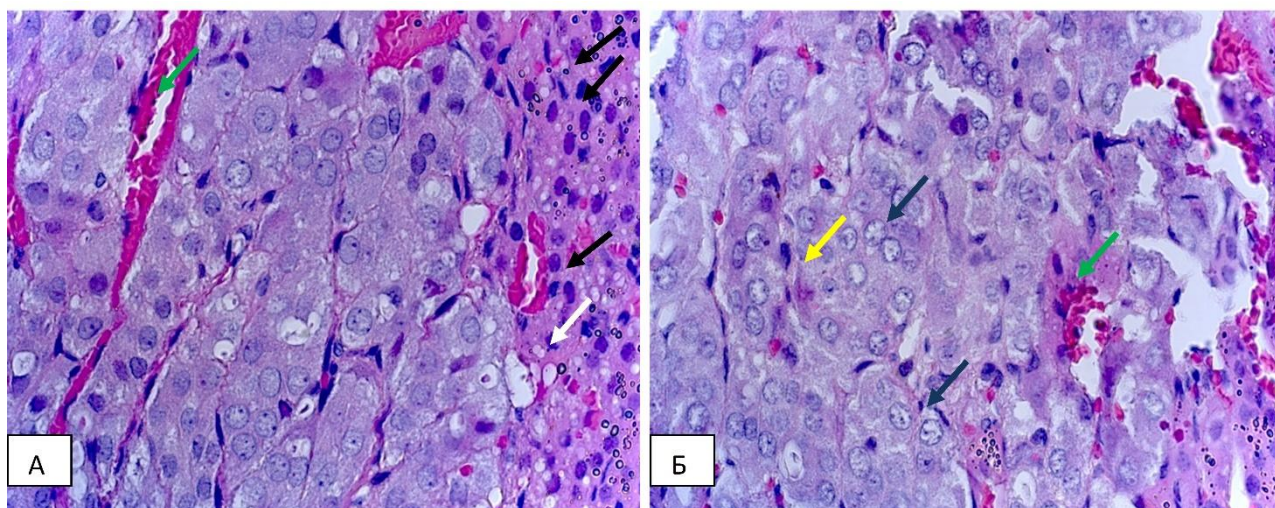


Рис. 4.5. Сітчаста зона кіркової (А) та мозкова речовина (А, Б) надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: гіперхромні ядра видовженої форми (чорні стрілки); ліпідна вакуоль (біла стрілка). Б: базофільна зернистість (жовта стрілка); еухроматичні ядра (сині стрілки). А, Б: судини з агрегованими еритроцитами (зелені стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 1000$.

Строма мозкової речовини характеризується наявністю тонких прошарків сполучної тканини інтерстицію з витягнутими темними ядрами фібробластів та судинами великого діаметру, що забезпечують відтік крові з даного органу, заповнених форменими елементами крові.

У підсумку, варто відзначити більш виражений вплив отрути *Vipera berus berus* саме на зовнішні клубочкову та пучкову зони кори надниркових залоз, більшість з морфологічних ознак патології в яких була спричинена порушенням протеїнового обміну у клітинах паренхіматозних та стромальних елементів даного органу.

4.3. Морфологічна характеристика кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

Загальний стан кортексу надниркових залоз щурів з контрольної групи, що зазнали впливу отрути *Vipera berus nikolskii*, є гіршим у порівнянні не лише з контрольною, а і з іншою експериментальною групою в даному дослідженні.

Клубочкова зона надниркових залоз тварин з даної групи характеризується наявністю нерівномірно розподіленої вакуолізації в слабо еозинофільній цитоплазмі ендокриноцитів. Межі між клітинами розмиті, через що іноді видається, що на одну клітину припадає декілька ядер. Присутні клітини практично без вакуоль, що свідчить на користь імовірного пригальмовування процесів синтезу стероїдних гормонів. Це можна пояснити порушенням роботи ферментів в клітинах, що через свою протеїнову природу є вразливими до протеолітичної дії отрути.

Цікавим є те, що ядра практично не зазнають змін – світло-базофільні через переважання еухроматину вони мають чітко окреслені ядерця і рівний гладенький контур нуклеолеми. Лише в деяких з них виявляються нерівномірно розподілені грудки гетерохроматину (рис. 4.6А, Б).

Стромальна складова тут також не зазнає значних змін. Капсула, що прилягає до клубочкової зони, характеризується наявністю сплосчених гіперхромних ядер фібробластів та структурованих колагенових волокон з невеликим просвітами між ними. Імовірно, терміни забору матеріалу (через 24 години після введення отрути) не дають часу для настання патологічних змін у сполучнотканинних елементах органу. Наявність поодиноких синусоїдних капілярів з еритроцитами також вказує на відсутність змін у васкуляризації саме цієї зони кори.

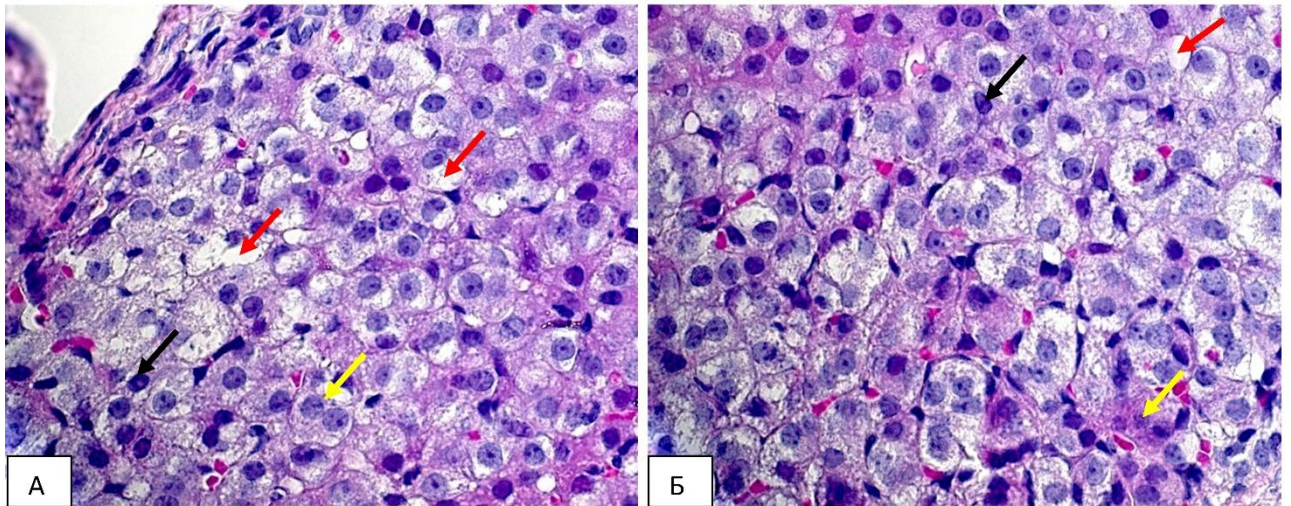


Рис. 4.6. Капсула (А) та клубочкова зона (А, Б) надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*. А, Б: вакуолізація (червоні стрілки); ядра з грудками гетерохроматину (чорні стрілки); розмиті межі між клітинами (жовті стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 1000$.

Пучкова зона кори надниркових залоз з даної групи проявляє ознаки більш значних морфологічних змін під впливом отрути. Клітини зберігають загальну організацію, формуючи стовпчики, проте між цими стовпчиками виявляються просвіти, самі колонки клітин не прилягають щільно одна до одної. Цитоплазма зберігає еозинофільність, проте стає зернистою, в ній зменшується кількість ліпідних включень, що свідчить про зниження рівня синтезу глюкокортикоїдів. Межі клітин часто є розмитими. Ядра проявляють гіперхромність, подекуди є дещо деформованими та мають шипуваті контури, що може говорити про ранні етапи каріопікнозу (рис. 4.7А, Б).

Відсутного впливу зазнає васкуляризація у цій зоні надниркових залоз. Межі судин порушуються, еритроцити потрапляють у просвіти між стовпчиками ендокриноцитів. Значних морфологічних змін зазнають саме клітини в найбільшій близькості від ушкоджених судин – їхні межі є нечіткими, цитоплазма набрякла, а ядра взагалі не проглядаються. Зона

найближче до крововиливу подібна до скупчення клітинного детриту. Варто відмітити, що при цьому еритроцити не злипаються у агрегати.

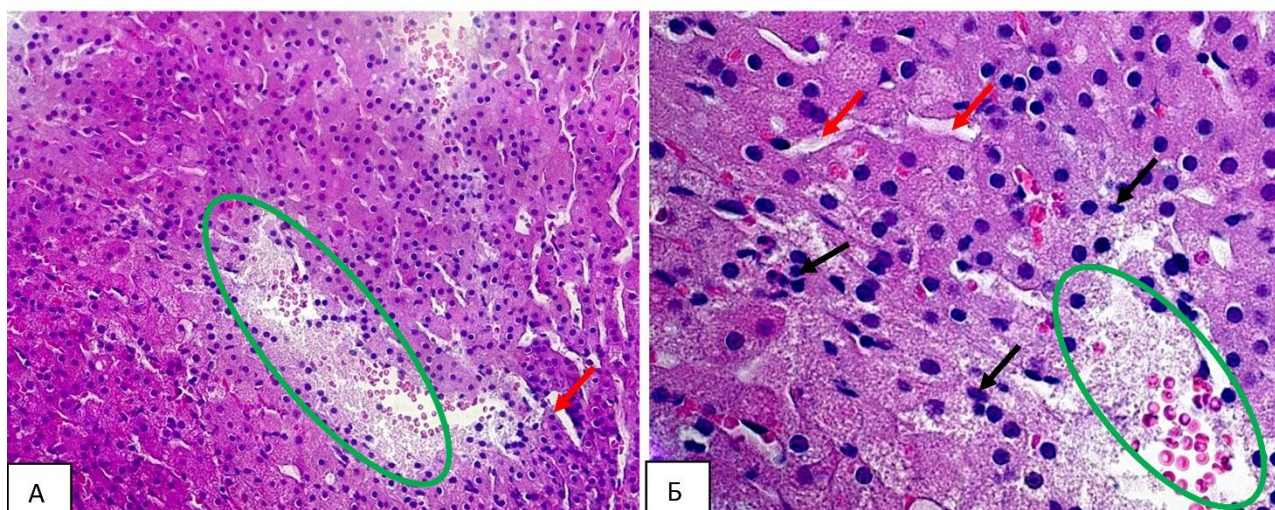


Рис. 4.7. Пучкова зона надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*. А, Б: просвіти між стовпчиками клітин (червоні стрілки); порушена структура судин (зелені овали). Б: порушені контури ядер (чорні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; А $\times 400$, Б $\times 1000$.

Наші спостереження підтверджуються даними з джерел, згідно з якими, реакція кори надниркових залоз на пошкодження загалом є варіабельною. Проте загальними ознаками гострої травми є дегенерація (вакуолярна та зерниста), некроз і крововиливи.

Інтерстицій залози за винятком судин та зон безпосередньо біля них, не має морфологічних ознак патологічних змін. Фібробласти мають чітко окреслені сплюснені темні ядра, цитоплазма також не піддається змінам.

Подібно до експериментальної групи, тварини з якої піддавались дії отрути *Vipera berus berus*, в даній групі *сітчаста зона* також зазнає найменш виражених змін під дією патологічного чинника. Клітини зберігають свою полігональну форму та щільне розміщення. Їх еозинофільна цитоплазма має незначний рівень ліпідної вакуолізації, що є типовим для цієї зони (рис. 4.8А).

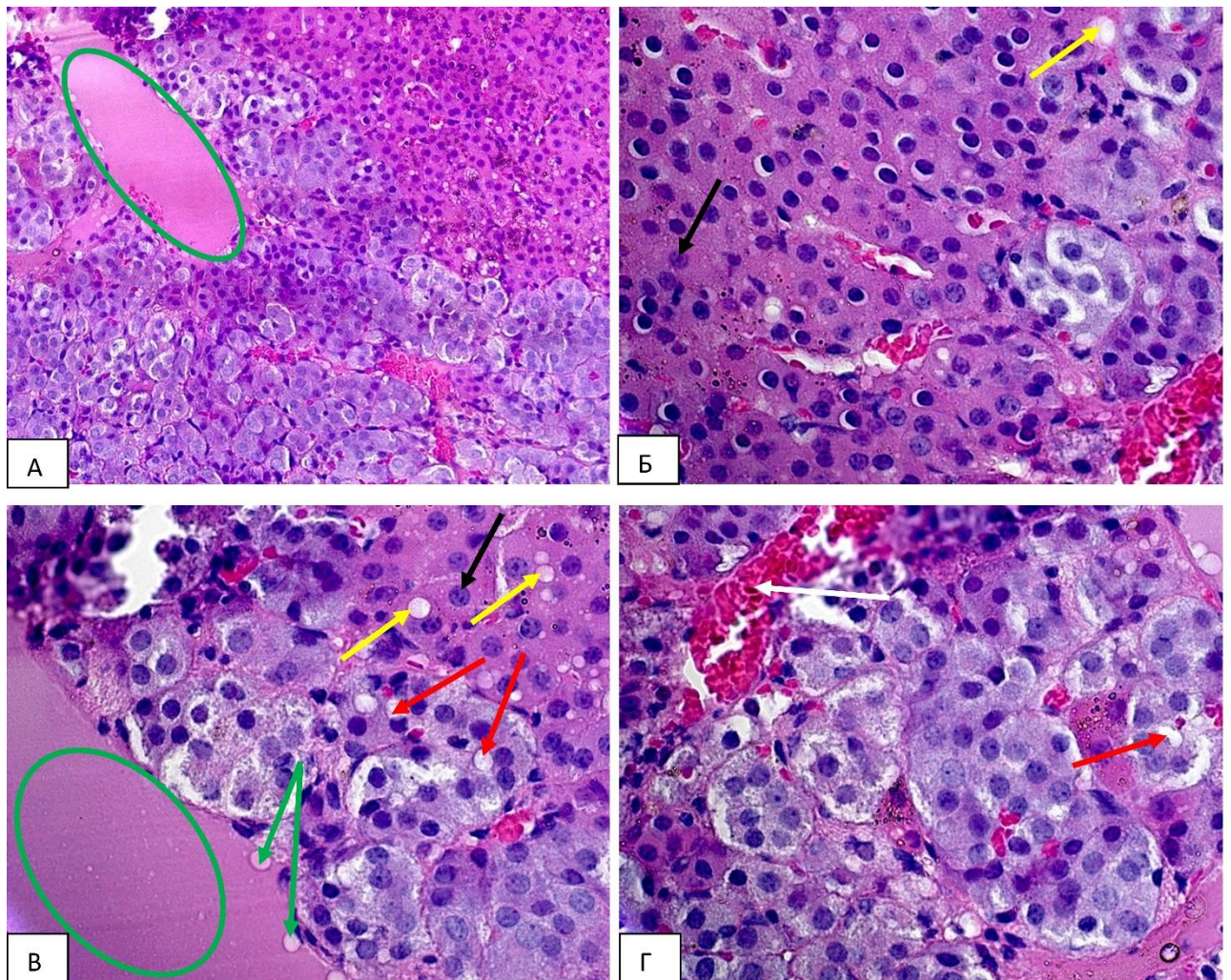


Рис. 4.8. Сітчаста зона кіркової (А, Б, В) та мозкова речовина (А, Б, В, Г) надниркових залоз щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*. А: дрібні, щільно розміщені клітини (блакитний овал). В: вакуолі на периферії просвіту судин (зелені стрілки). Г: агреговані еритроцити в просвіті судини (біла стрілка). А, В: плазма у просвіті судини (зелений овал) Б, В: ліпідна вакуолізація (жовті стрілки); ядра округлої форми. В, Г: вакуолі в цитоплазмі клітин медули (червоні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; А $\times 400$, Б, В, Г $\times 1000$.

Ядра зберігають регулярну округлу форму, в більшості характеризуються наявністю еухроматину з чітко вираженими на його фоні ядерцями (рис. 4.8Б). У стромі також не спостерігається ознак патології.

Мозкова речовина надниркових залоз тварин, яким вводили отруту гадюки *Vipera berus nikolskii*, має зміни у циркуляторному руслі – у великих

судинах, що притаманні цій частині залози, значні зони заповнені не форменими елементами крові, а плазмою. При цьому на периферії судин спостерігається незначна вакуолізація та присутність червоних клітин крові. Характерним також є те, що ендотеліоцити вистилки цих вен патологічних змін не зазнають.

Цитоплазма ендокриноцитів медули зберігає слабку базофілію, пов'язану з наявністю розвиненої гранулярної ендоплазматичної сітки, залученої до синтезу гормонів протейнової природи. В цитоплазмі присутні поодинокі чітко окреслені вакуолі (рис. 4.8В, Г). Тим не менш, ядра в частині клітин характеризуються гіперхромністю, що свідчить про зниження білок-синтетичної активності.

Загалом, найбільш вразливою до дії отрути гадюки *Vipera berus nikolskii* виявилась пучкова зона кори надниркових залоз, значною мірою через порушення структури судин та крововиливи в оточуючі інтерстицій та паренхіму. Крупні вени в мозковій речовині також мають явні ознаки порушень у кровотоці, вони заповнені плазмою із зосередженням формених елементів крові на периферії.

Якщо порівнювати всі три групи, залучені до експерименту, можна стверджувати, що надниркова залоза щурів, яким внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин, практично не зазнала змін. Вплив отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* дещо відрізнявся у проявах і локалізації, проте певні тенденції є спільними. Зокрема, жодна з отрут не має морфологічно задокументованого впливу на *сітчасту зону* кори надниркових залоз та їх стромальний компонент. Тварини, які отримували дозу отрути степової гадюки мають більш стриманий прояв патології у *лубочковій і пучковій зонах*, в той час як отрута гадюки Нікольського викликає значні зміни в *zona fasciculata* та крупних судинах медули. Як уже згадувалось, специфічна вразливість кожної з зон кори надниркових залоз до певної отрути пов'язана з фізіологічною роллю та метаболічною активністю цієї зони. Оскільки за даними біохімічних досліджень отрути степової гадюки та гадюки

Нікольського містять фосфоліпази, їх вплив на функціонування клубочкової і пучкової зон може бути пов'язаний з порушенням метаболічних каскадів синтезу стероїдних гормонів. Крім того, згідно з біохімічним аналізом, отрута *Vipera berus nikolskii* містить значну кількість фосфоліпаз (більше 60%), що і пояснює її інтенсивніший патологічний вплив на кору надниркових залоз і на *пучкову зону* зокрема.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті фахового журналу (Україна), що відноситься до наукометричної бази Scopus [151].

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ *VIPERA BERUS*

5.1. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів контрольної групи тварин

Вивчення загальної морфології стромальних та паренхіматозних складових сім'яників тварин з контрольної групи не виявляють відхилень від норми.

Капсула та трабекули характеризуються наявністю еозинофільних колагенових волокон, які не демонструють розшарувань чи значних просвітів та сплющеними темними ядрами фіброblastів (рис. 5.1А), розташованих між ними. Інтерстицій характеризується рівномірним еозинофільним забарвленням та наявністю дрібних судин без ознак набряку чи агрегації формених елементів крові (рис. 5.1Б).

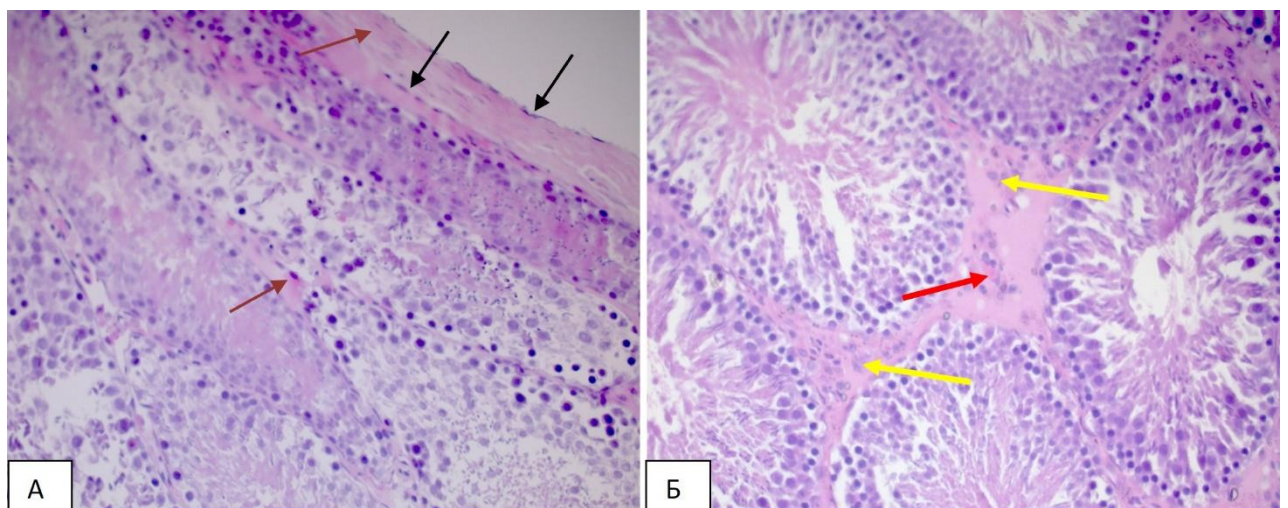


Рис. 5.1. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з контрольної групи. А: ядра фіброblastів (чорні стрілки); колагенові волокна капсули та трабекул (коричневі стрілки). Б: судина (червона стрілка); клітини Лейдига (жовті стрілки). Забарвлення гематоксилином та еозином; А, Б $\times 400$.

Інтерстицій навколо сім'яних канальців характеризується наявністю клітин Лейдіга, що утворюють групи з декількох клітин. Клітини мають незмінену морфологію з полігональною формою, еозинофільною цитоплазмою, що ускладнює їх вирізнення на фоні інтерстицію, та великим круглим ядром із помітним ядерцем (рис. 5.1Б). Рясний вміст ліпідів, необхідних для синтезу стероїдних гормонів, при забарвленні еозином та гематоксиліном виявляється у вигляді світліших зон у цитоплазмі. Сплюснені ядра у безпосередній близькості до базальної мембрани звивистих канальців належать міоїдним клітинам, що характеризуються скоротливою функцією та допомагають у просуванні вмісту канальців.

Патогістологічне дослідження паренхіми яєчок тварин з контрольної групи показало, що звивисті канальці характеризуються регулярною округлою формою і нормальним розташуванням клітин Сертолі (рис. 5.2Б). Всі сім'яні канальці мають тонку базальну мембрану та нормальну сперматогенну активність, яка підтверджується розташуванням та морфологією статевих клітин на різних етапах розвитку (рис. 5.2А, Б).

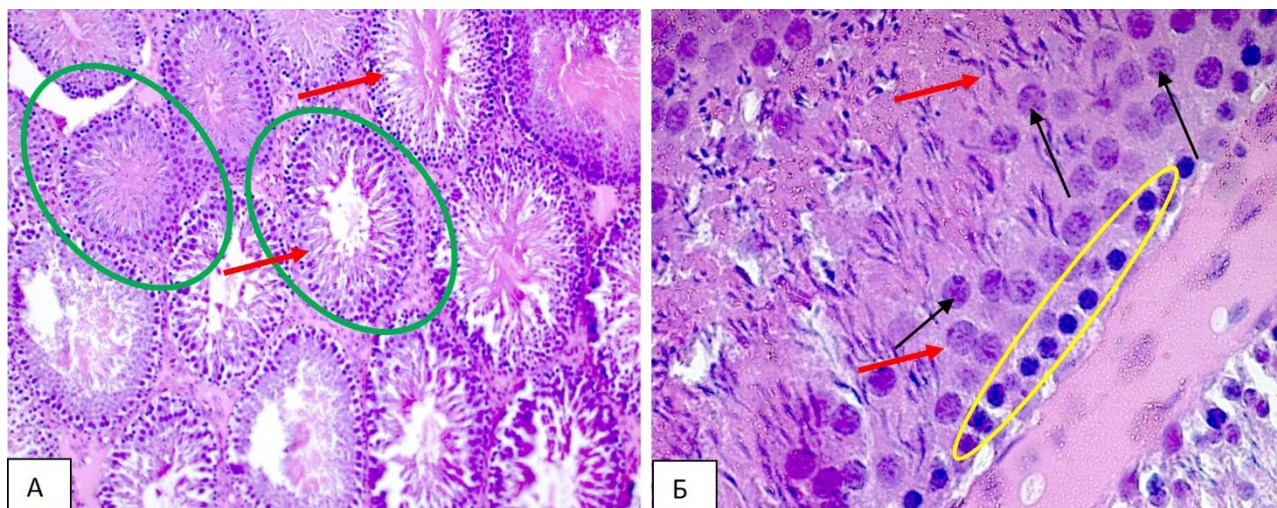


Рис. 5.2. Строма та звивисті канальці сім'яників щурів з контрольної групи. А: звивисті канальці регулярної форми (зелені овали). А, Б: сперматогенні клітини у просвітах канальців (червоні стрілки). Б: сперматогонії (жовтий овал); ядра первинних сперматоцитів (чорні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином; А $\times 400$, Б $\times 1000$.

Клітини, що проходять сперматогенез у звивистих каналцях, представлені *сперматогоніями* – вони мають ознаки, притаманні стовбуровим клітинам – велике темне ядро, що займає основну частину клітини, та незначний обідок цитоплазми. Ядро характеризується значним рівнем конденсації хроматину – основна його частина зайнята інтенсивно базофільними скупченнями гетерохроматину з незначною долею еухроматину. Деякі з клітин демонструють фігури мітозу, що свідчить про їх активний поділ. Сперматогонії розташовані рівними рядами, прилеглими до базальної мембрани, їх ядра розміщені на одному рівні (рис. 5.2Б).

В міру просування до центру звивистого каналця, сперматогонії змінюються на первинні та вторинні сперматоцити. *Первинні сперматоцити* є найбільшими сперматогенними клітинами, і їх зазвичай багато на всіх рівнях між базальною мембраною та просвітом каналця. Ці клітини мають крупні світлі ядра через переважання еухроматину, пов'язане з активізацією процесів синтезу протеїна у цих клітинах (рис. 5.2Б). *Вторинні сперматоцити* досить рідко можна побачити, тому що вони майже відразу піддаються другому мейотичному поділу з утворенням двох гаплоїдних сперматид. Новоутворені округлі *ранні сперматиди* починають втрачати цитоплазму, їх ядро вертикально витягується. Після диференціації та втрати об'єму, вони стають *пізніми сперматидами* і, нарешті, високоспеціалізованими сперматозоїдами (рис. 5.3А).

Зрілі сперматозоїди майже повністю заповнюють просвіти звивистих каналців, утворюючи в них еозинофільну масу (рис. 5.3Б).

Підтримку всіх згаданих сперматогенних клітин здійснюють клітини Сертолі. Морфологія цих клітин характеризується подовженою пірамідальною формою та везикулярними ядрами, що спостерігаються між іншими клітинами та виконують функції опори, трофіки та захисту.

Ефективне виробництво нормальних сперматозоїдів вимагає повноцінної взаємодії між статевими та різними опорними соматичними клітинами, які утворюють сперматогенну нішу. Саме клітини Сертолі

взаємодіють безпосередньо зі статевими клітинами, тож вони є життєво важливими для сперматогенезу. Відповідно, дисфункція цих клітин під впливом зовнішніх чи внутрішніх факторів часто призводить до сперматогенної недостатності [226]. Лише обмежена кількість статевих клітин може підтримуватися клітинами Сертолі, тому кількість та нормальний стан цих клітин позитивно корелюють із щоденним виробництвом сперматозоїдів [144].

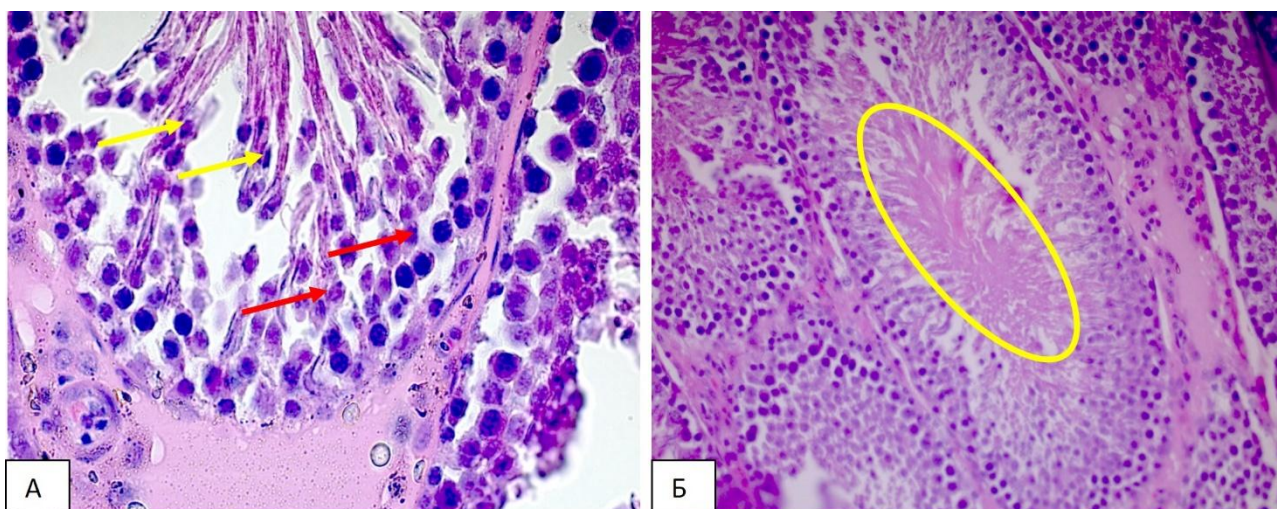


Рис. 5.3. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з контрольної групи. А: ранні сперматиди (червоні стрілки); пізні сперматиди (жовті стрілки). Б: сперматозоїди у просвітах каналців (жовтий овал). Забарвлення гематоксиліном та еозином; А $\times 1000$, Б $\times 400$.

5.2. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

Вивчення впливу зміїної отрути на будову та функцію сім'яників пов'язане з їх важливими функціями, що мають складні механізми регуляції.

Такі фактори, як активний мітоз, наявність бар'єру між кров'ю та сім'яниками, сперматогенний цикл і гормональний контроль, ускладнюють реакцію цього органу на зовнішні токсичні фактори.

Проте загальні механізми типів тестикулярної токсичності можна класифікувати за певними механізмами розвитку. Перш за все потрібно аналізувати первинну токсичність – прямий вплив отрути на сперматогенний епітелій. Крім того, існує декілька непрямих факторів впливу отрути на цей орган, пов'язаних з регуляцією його функцій та кровопостачанням. Зокрема, непрямий гормональний вплив на сперматогенез та порушення кровообігу в яечку також можуть призводити до патологічних змін. При гістологічній оцінці тестикулярної токсичності дуже корисними є гістологічні моделі токсичних уражень, спричинених різними модельними хімічними речовинами, класифікованими на основі механізмів їх дії.

Дослідження впливу токсичних сполук на будову та функцію сім'яників переконливо свідчать про те, що саме ранні зміни, а не ті, що відбуваються на пізніх стадіях, є особливо корисними для розуміння механізмів їх дії. Це спостереження корелює з нашим дослідженням, адже ми вивчаємо морфологію яєчок через 24 години після введення змійної отрути [44, 132, 179].

Морфологічне дослідження яєчок тварин з групи із введеною отрутою гадюки звичайної показало нижчу реактивність враження стромальних елементів у порівнянні з паренхіматозними. Щільна сполучна тканина капсули та трабекул не зазнає відчутних змін: септи не потовщуються та не зазнають розшарування. Дрібні та середні кровоносні судини в інтерстиції характеризуються повнокровністю і агрегацією червоних клітин крові у просвіті (рис. 5.4А, 5.5Г). Загалом форма звивистих каналців не змінюється і лишається досить регулярною (рис. 5.4Б).

Іноді інтерстицій характеризувався збільшеною кількістю клітин Лейдіга, що може говорити про порушення у гормональній регуляції роботи цього органу (рис. 5.5А, Г).

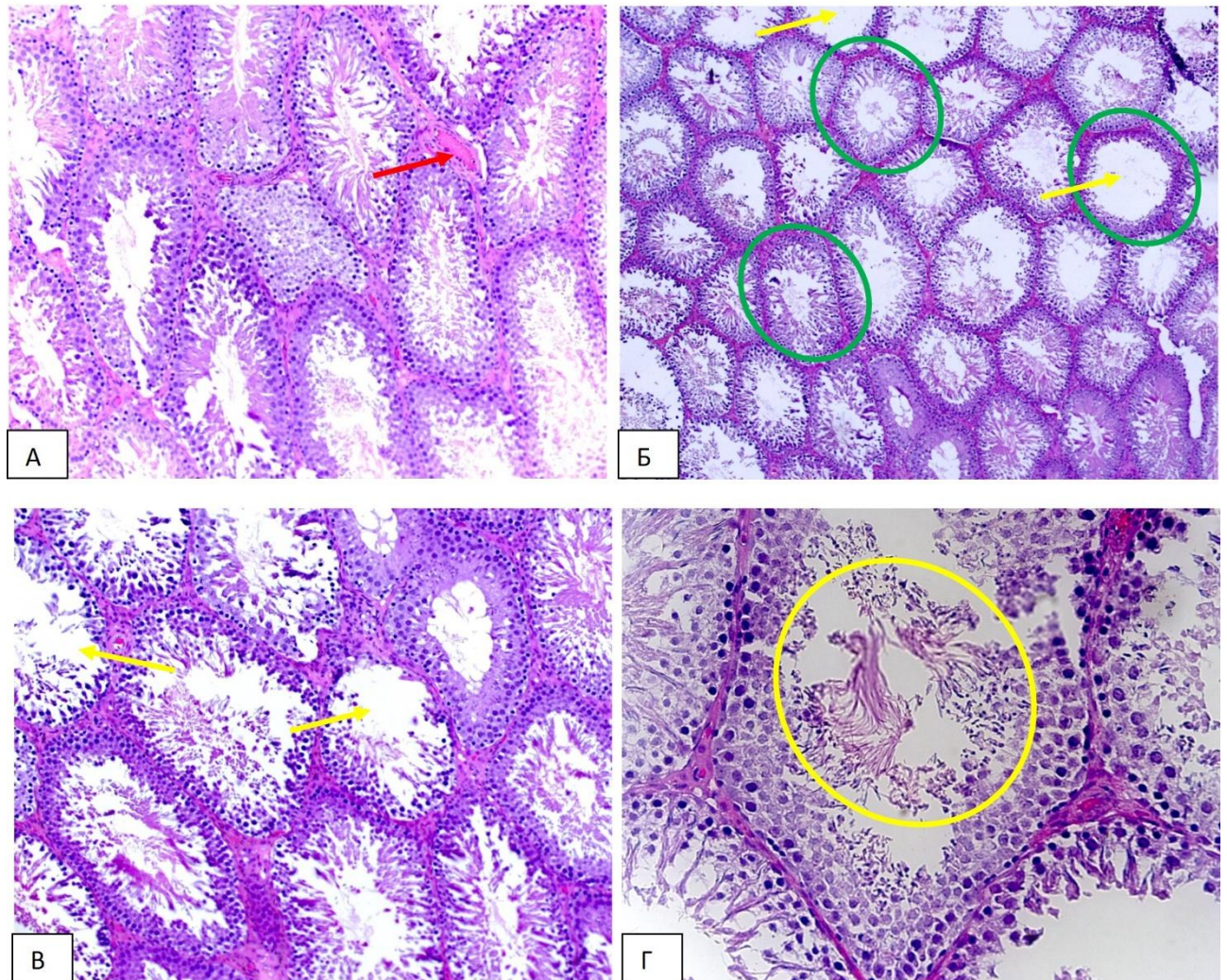


Рис. 5.4. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: повнокровні судини з агрегованими елементами крові в просвіті (червона стрілка); Б: звивисті каналці регулярної форми (зелені овали); Б, В: зіяючий простір звивистих каналців без сперматогенних клітин (жовті стрілки); Г: десквамовані незрілі клітини у просвітах каналців (жовтий овал). Забарвлення гематоксиліном та еозином; А, В $\times 200$, Б $\times 100$, Г $\times 400$.

На відміну від стромы, паренхіматозні складові ячок характеризуються різноманітними мікроскопічними ознаками ушкодження. Зокрема, загальний огляд вмісту звивистих каналців демонструє відшарування та дезорганізацію сперматогенних клітин на всіх стадіях розвитку. Просвіт деяких каналців є

зіяюче пустим, що свідчить про радикальне порушення процесів сперматогенезу в них (рис. 5.4Б, В). Така пустота, найбільш імовірно, визначається неповною зупинкою сперматоцитів на шляху сперматогенезу в таких каналцях. У разі сперматогенної гіпоплазії каналці мають знижену популяцію статевих клітин і поганий порядок сперматогенезу.

В інших каналцях лущення та дезорганізація вказують на те, що сперматогенез має безладний вигляд, а просвіт каналців заповнений десквамованими незрілими клітинами (рис. 5.4Г).

Сперматогенні клітини у звивистих каналцях тварин з цієї групи характеризуються змінами у морфології та розташуванні. На відміну від тварин з контрольної групи, у щурів після введення отрути гадюки звичайної *сперматогонії* втрачають регулярність свого розміщення і знижуються у кількості (рис. 5.5А, Б). Клітини відходять від базальної мембрани і не формують одного шару. Цілком імовірно, що їхнє розташування нижче гемато-тестикулярного бар'єру робить їх найбільш вразливими до отрути, яка приноситься в сім'яники з кров'ю. В деяких каналцях сперматогонії практично не проглядаються (рис. 5.5Б), що свідчить про втрату можливості поновлювати популяцію чоловічих статевих клітин, адже лише сперматогонії можуть ділитись мітозом і виконувати цю функцію.

Первинні сперматоцити дещо менше піддаються впливу зміїної отрути, їхня загальна присутність в просвітах каналців практично не змінюється, проте їх розташування стає дезорганізованим, вони значною мірою зміщуються до центру звивистих каналців, де «перемішуються» з більш зрілими формами сперматогенних клітин (рис. 5.5В, Г). Всередині сперматоцитів першого порядку часто проглядається вакуолізація, що знаходиться довкола ядра (рис. 5.5А). Імовірно, це можна пояснити походженням цих вакуоль – це розширені цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулюму, які намагаються забезпечити детоксикаційні процеси в клітині.

Ранні та пізні сперматиди у своєму розташуванні зсуваються до центру звивистих каналців, імовірно, втрачаючи зв'язок з клітинами Сертолі. Ближче до центру просвіту каналця вони утворюють еозинофільну аморфну масу разом зі зрілими *сперматозоїдами*. Цікавою особливістю є також наявність скупчень еритроцитів у просвіті каналців, що, імовірно, свідчить про крововиливи під впливом дії зміїної отрути (рис. 5.5Б, В).

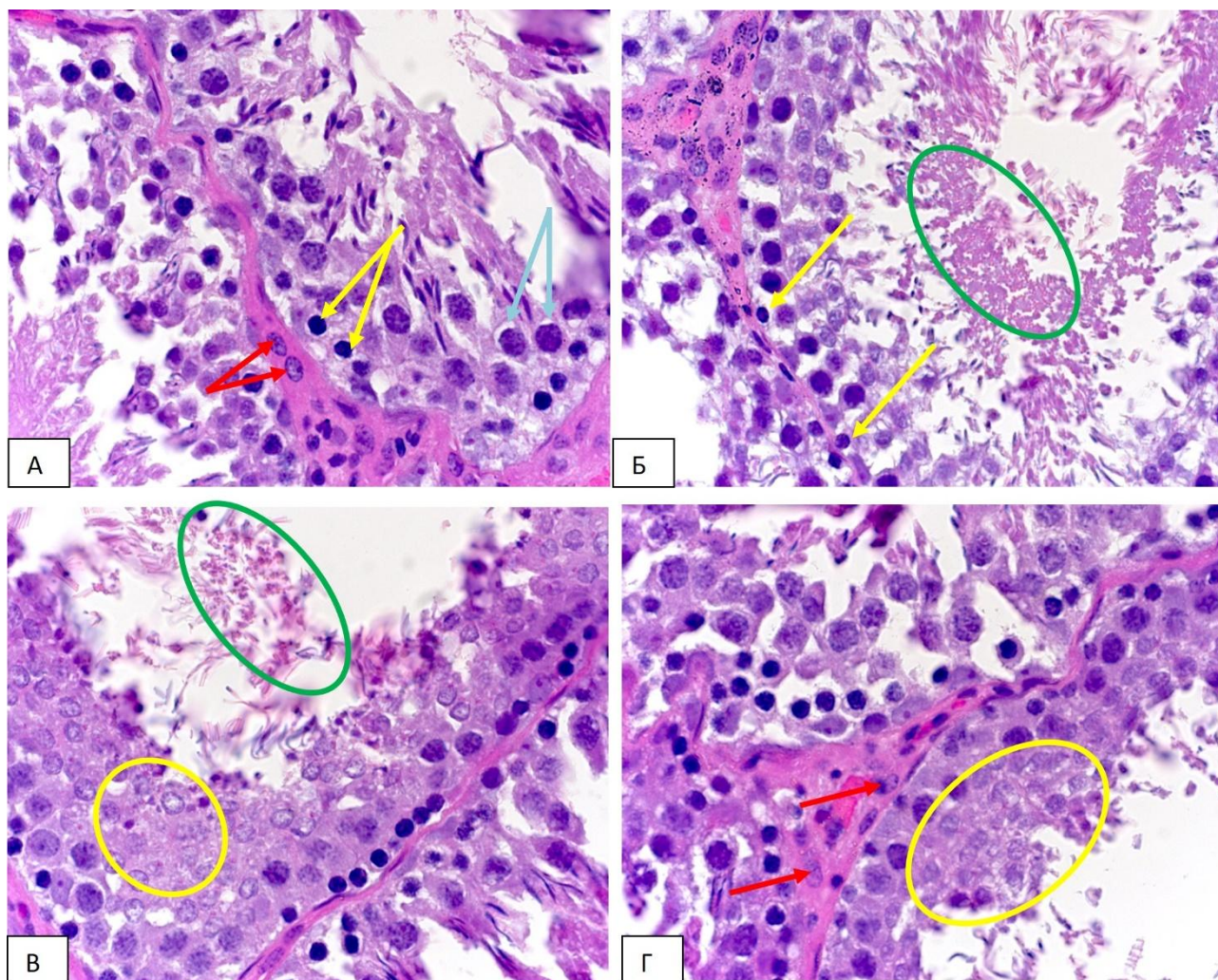


Рис. 5.5. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: вакуолізації довкола ядра сперматоцитів (голубі стрілки); А, Б: незначна кількість нерегулярно розміщених сперматогоній (жовті стрілки); А, Г: клітини Лейдіга в інтерстиції (червоні стрілки); Б, В: еритроцити в межах аморфної маси в просвітах звивистих каналців (зелені овали); В, Г: клітинна маса зі сперматогенних

клітин різного ступеня зрілості з розмитими краями (жовті овали).
Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 1000$.

У підсумку варто відзначити, що вміст звивистих каналців у цій дослідній групі характеризується частковою зупинкою проліферації та диференціації сперматоцитів, сперматогенною гіпоплазією.

5.3. Морфологічна характеристика сім'яників та процесів сперматогенезу щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

Як показують результати біохімічного дослідження та морфологічний огляд стану інших органів у даній експериментальній групі, вплив отрути *Vipera berus nikolskii* має більш виражені патологічні наслідки для внутрішніх органів. Ці висновки підтверджуються також аналізом стану стромальних та паренхіматозних складових сім'яників тварин, що зазнали її дії.

На відміну від іншої експериментальної групи, у випадку дії отрути гадюки Нікольського, враження зазнали не лише паренхіматозні, але і стромальні елементи яєчок. На фоні капсули, що практично не зазнала змін (рис. 5.6А), трабекули характеризуються наявністю досить великих вакуоль та нерівномірно забарвленими ядрами фібробластів, в яких відзначаються глибоки гетерохроматину на світлішому фоні (рис. 5.7А). Кровоносні судини також зазнають агрегації формених елементів – їх просвіти повністю перекриті (рис. 5.6Б). Кількість клітин Лейдіга, які легко можна диференціювати від інших клітин інтерстицію за крупними округлими та світлими ядрами стають більш численними. В їх ядрах також спостерігається агрегація гетерохроматину у темні глибоки (рис. 5.7А).

Якщо говорити про паренхіму сім'яників тварин з цієї експериментальної групи, то патологічні зміни там є дещо інакше вираженими за іншу експериментальну групу. Загальна архітектура звивистих каналців лишається не порушеною, їх форма є регулярною, а сполучнотканинні перегородки між ними все ще тонкі і не схильні до розростання (рис. 5.6А,

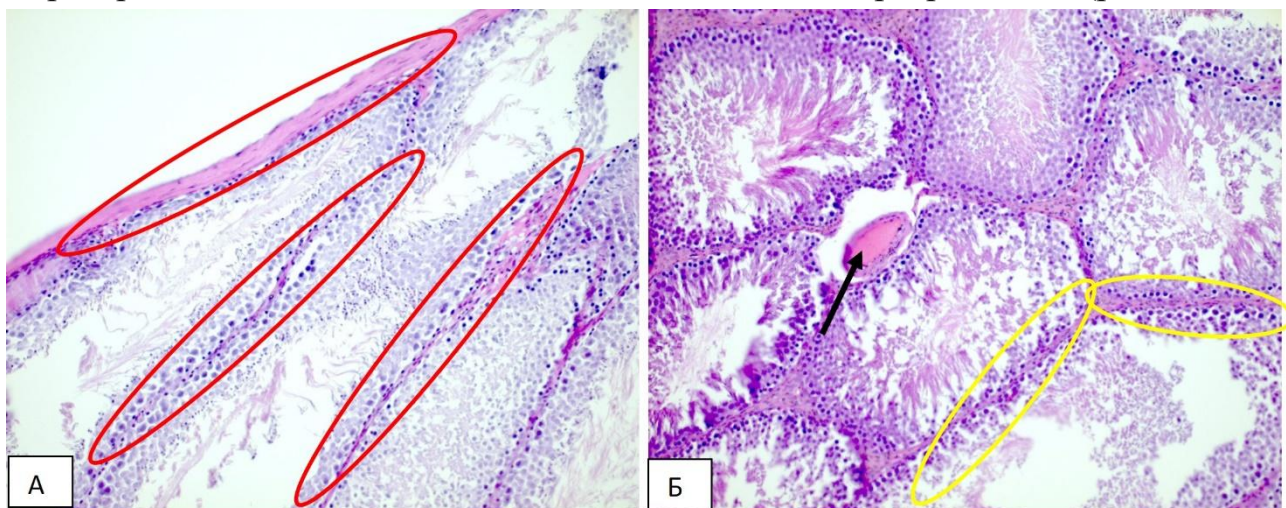


Рис. 5.6. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*. А: капсула та трабекули без патологічних змін (червоні овали); Б: агреговані формені елементи в кровоносних судинах (чорна стрілка); звужений шар сперматогенного епітелію (жовті овали). Забарвлення гематоксиліном та еозином; $\times 200$.

Сперматогонії є нечисленними або можуть взагалі не проглядатись біля базальної мембрани, часто вони відділені від неї світлою зоною, що, імовірно, свідчить про набряк. Розташування цих клітин часто є нерегулярним, вони не формують рядів і їх ядра розташовані на різній віддаленості від базальної мембрани каналця. Їх межі стають нечіткими, а ядра нерівномірно забарвленими. Оскільки саме сперматогонії, завдяки здатності до мітотичного поділу, лежать в основі відтворення популяції сперматогенних клітин, такий рівень їх ураження вказує на глибоке порушення сперматогенезу у відповідь на дію цієї отрути.

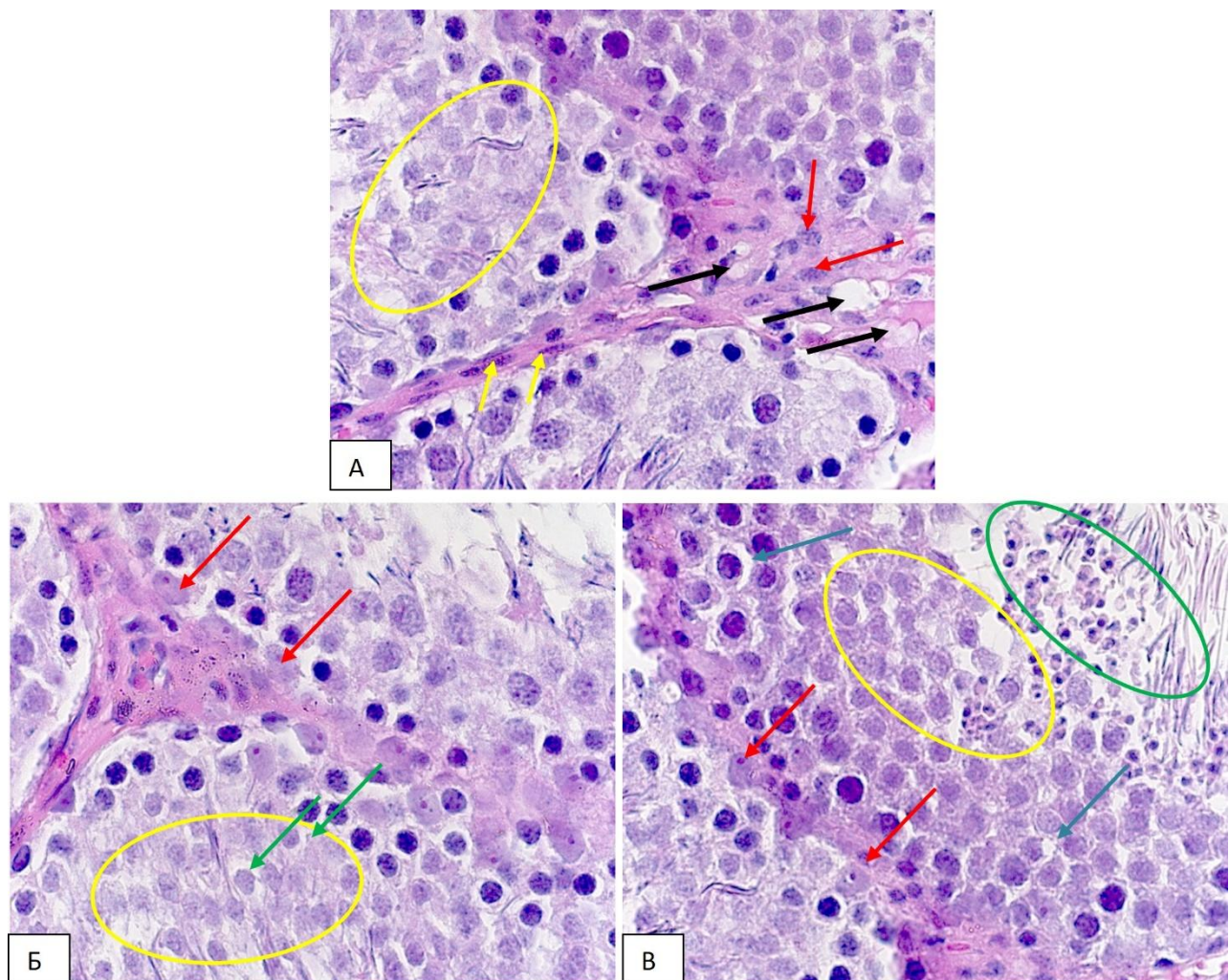


Рис. 5.7. Строма та звивисті каналці сім'яників щурів з експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*. А: вакуолі в трабекулах (чорні стрілки); глибки гетерохроматину в ядрах клітин Лейдіга (червоні стрілки); нерівномірність зернистості в ядрах фіброblastів (жовті стрілки). Б, В: клітини Сертолі (зелені стрілки); набряки в цитоплазмі сперматогенних клітин (голубі стрілки); А, Б, В: маса сперматогенних клітин з розмитими контурами (жовті овали); В: пізні сперматиди з округлими ядрами в центрі просвітів каналців (зелений овал). $\times 1000$.

Первинні сперматоцити мають розмиті межі клітин та набряк бліду цитоплазму. Набряк локалізується довкола їх ядра, що говорить на користь його походження з розширених цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки.

При цьому клітини Сертолі стають помітнішими, імовірно, через зменшення кількості сперматогенних клітин довкола них (рис. 5.7Б, В).

Ранні та пізні сперматиди зливаються в єдину масу клітин з нечіткими межами (рис. 5.7А, Б, В). Вони мають бліді ядра з нерівномірним розподілом хроматину та слабо-базофільну цитоплазму з численними набряками (рис. 5.7Б, В). Ближче до центру каналців від деяких з цих клітин залишаються голі ядра з уривками цитоплазми. Цікавою особливістю є наявність пізніх сперматид з округлими, а не витягнутими пікнотичними ядрами практично в центрі просвітів каналців (рис. 5.7 В).

Зрілі сперматозоїди утворюють неоднорідну еозинофільну масу в центрі звивистих каналців, іноді зміщену до периферії.

Загалом варто відмітити досить розрізнене розташування клітин сперматогенного епітелію в просвітах каналців цієї групи. Клітини Сертолі, присутність яких стає більш очевидною, імовірно, є більш стійкими до патогенної дії отрути, оскільки є більш зрілими та диференційованими за клітини сперматогенного епітелію.

Загалом, сукупність патологічних змін у стромі і, особливо, паренхімі сім'яних каналців щурів з обох експериментальних груп свідчать про тенденцію до агрегації формених елементів у просвітах судин, значного рівня загибелі сперматогоній та набряку у цитоплазмі більш пізніх клітин сперматогенного ряду. Розширення просвіту каналців чи блокування їх агрегатами злиплих статевих клітин на різних стадіях розвитку підтверджують швидку і потужну дію отрути на процеси формування статевих клітин в цій залозі. При цьому варто відмітити більш різко виражену дію на сім'яники отрути *Vipera berus nikolskii*.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті фахового журналу (Україна), що відноситься до наукометричної бази Scopus [152].

РОЗДІЛ 6
МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН
НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ТА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ
ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS

6.1. Аналітична і кількісна оцінка стану надниркових залоз щурів з контрольної та експериментальних груп

Статистичний аналіз параметрів надниркових залоз щурів у нашій роботі був спрямованим на оцінку двох неперервних змінних: площі мікроциркуляторного русла у стромі цих залоз та ядерно-цитоплазматичного індексу гормон-продукуючих клітин їх паренхіми. Ці дані було виміряно для однієї контрольної групи та двох експериментальних груп, щури в яких зазнали дії отрут двох видів гадюк – *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*. Всі вимірювання проводились за допомогою програми Fiji:ImageJ та оброблялись в Excel.

Вимірювання площі мікроциркуляторного русла було обране нами для аналізу впливу дії різних отрут на надниркові залози тому, що ці токсичні речовини розносяться організмом з током крові і, очевидно, шкодять і стінкам судин і внутрішньосудинним елементам, таким як плазма та формені елементи крові. Саме загальна площа артеріол, капілярів і венул, присутніх у зрізах цих ендокринних органів може кількісно характеризувати такі патологічні процеси, як наявність набряків, крововиливів, розширення судин при запаленні, тощо. Для оцінки стану кровоносної системи у стромі надниркових залоз нами було обрано саме кіркову речовину, оскільки переважаючим типом судин мозкової речовини є вени, що не належать до мікроциркуляторного русла. Крім того, дослідження показують, що основний негативний вплив

зовнішні токсини проявляють саме на кіркову речовину, а не на мозкову, тож доцільнішим є аналіз мікроциркуляції саме там.

Для оцінки частки надниркових залоз, що зайнята на зрізах елементами мікроциркуляторного русла нами було виміряно площі відповідних судин у 8 зрізах надниркових залоз тварин з контрольної та двох експериментальних груп (по чотири тварини з кожної групи). Далі ми знаходили суми цих площ для кожного зрізу. Для вимірювань використовували цифрові зображення, одержані під світловим мікроскопом за збільшення $\times 1000$. Оскільки фото з усіх трьох груп було зроблено за однакового збільшення та роздільної здатності, ці вимірювання дають нам можливість оцінити, як змінюється площа дрібних кровоносних судин під впливом отрути на фоні контролю. Площа зрізу, в межах якого ми вимірювали судини для всіх груп, складає $23803,41 \text{ мкм}^2$.

З метою кількісної оцінки загального стану клітин паренхіми надниркових залоз нами було обрано обрахунок ядерно-цитоплазматичного співвідношення у ендокринних клітинах клубочкової та пучкової зони кори, оскільки згідно з даними літератури, саме ці дві зони є найбільш вразливими до впливу екзогенних отрут. Дія отруйних речовин на клітину характеризується з одного боку, зморщуванням ядра (пікнозом), як раннім елементом прояву некрозу. З іншого боку, цитоплазма піддається набряку, пов'язаному з порушенням роботи мітохондрій, на які діють зовнішні чинники, в даному випадку, отрути. Зморщування ядра і розбухання цитоплазми призводять до зниження ядерно-цитоплазматичного індексу.

Підрахунок ядерно-цитоплазматичного індексу здійснювався в 40 клітинах на 4 зрізах від чотирьох тварин з кожної групи. Ми визначали даний індекс для клітин клубочкової та пучкової зон, що відповідають за синтез стероїдних гормонів. Вимірювання проводились на цифрових зображеннях, одержаних зі світлового мікроскопа при збільшенні $\times 1000$.

Оскільки при перевірці вимірювань з контрольної та обох експериментальних груп на нормальність розподілу, графіки не відповідали

кривій Гауса, нами для визначення достовірності відмінностей між групами було застосовано непараметричний критерій Манна-Уїтні.

6.1.1. Оцінка площі мікроциркуляторного русла у кірковій речовині надниркових залоз у контрольній та експериментальних групах.

При аналізі загальної площі, яку займають дрібні судини на зрізах кори надниркових залоз, було виявлено достовірне зростання цього показника у групі із введенням отрути *гадюки звичайної* відносно групи контролю (табл. 6.1). Якщо у контрольній групі цей показник складає 445,29 мкм² (перший квартал 318,49 мкм²; третій квартал 511,56 мкм²), то для відповідної експериментальної він складає 1298,39 мкм² (перший квартал 915,02 мкм²; третій квартал 1614,56 мкм²).

Таблиця 6.1

Середнє значення площі мікроциркуляторного русла надниркових залоз у контрольній та експериментальних групах

Група	Середнє значення площі, мкм ²	Наявність достовірної різниці з групою контролю
Контроль	445,29±226,51	—
Група із введенням отрути <i>гадюки Vipera berus berus</i>	1298,39±608,24	Наявна*
Група із введенням отрути <i>Vipera berus nikolskii</i>	2915,71±1654,68	Наявна*

Таке розширення мікроциркуляторного русла є цілком логічним і пов'язане з кількома факторами. Перш за все, дія отрути спричинює враження саме стінок судин, оскільки з кров'ю ця отрута транспортується організмом. Вражаються і формені елементи крові, зокрема еритроцити, що агрегують і

закупорюють судини. У випадку зміїної отрути, вона діє на протеїни, в тому числі, на протеїни плазми крові, коагулюючи їх і порушуючи її структуру і в'язкість. Крім того, надходження чужорідного чинника до тканин і розповсюдження його в них провокує розвиток запальних реакцій, які супроводжуються набряком у тканинах, спричиненим розширенням судин та підвищенням їх проникності.

Також варто відмітити незначне стандартне відхилення для обох груп, що вказує на регулярність процесів розширення судин, що притаманне для всіх елементів мікроциркуляторного русла у рівній мірі (рис. 6.1). Можна припустити, що отрута *гадюки звичайної* шкодить мікроциркуляторним процесам у наднирковій залозі, що призводить до порушення її морфології та функціонування і, у кінцевому рахунку, до некрозу. Оскільки нами проводилась оцінка стану надниркових залоз через 24 години після введення отрути, зміни у тканинах не є радикальними, а ушкодження судин, імовірно, можуть з часом погіршуватись.



Рис. 6.1. Індивідуальні показники площі мікроциркуляторного русла тварин з контрольної та експериментальних груп зі стандартним відхиленням. Ряд 1 – контрольна група; ряд 2 – група із введенням отрути гадюки *Vipera berus berus*; ряд 3 – група із введенням отрути *Vipera berus nikolskii*.

Оцінка стану судин мікроциркуляторного русла у групі із введенням отрути *гадюки Нікольського* показує достовірне збільшення відносно групи контролю (рис. 6.1). Тут цей показник складає 2915,71 мкм² (перший квартал 1532,58 мкм²; третій квартал 3883,93 мкм²). Судини кіркової речовини збільшуються у розмірах через набряк та порушення їх вмісту. Просвіти капілярів і венул розширюються через накопичення в них загрегованих еритроцитів та згустків плазми крові. Подібні процеси спостерігаються і при дії отрути *гадюки звичайної*. І хоча нами не було виявлено достовірної різниці між двома експериментальними групами, варто відмітити більше значення середньої площі судин у групі, що зазнала дії отрути *гадюки Нікольського*. Окрім патологічних процесів, що розвиваються внаслідок дії обох отрут, тут вражаюча дія токсинів спричиняє також розрив стінок дрібних судин та вихід з них формених елементів та плазми крові в оточуючі інтерстицій та паренхіму.

6.1.2. Оцінка ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів клубочкової та пучкової зон кори надниркових залоз контрольної та експериментальних груп.

Вплив токсичних речовин на морфологію та функціонування клітин зручно оцінювати за значенням ядерно-цитоплазматичного індексу, оскільки цей параметр відображає стан ядра, як учасника синтезу протеїна, та цитоплазми, в якій перебігає більшість важливих для функціонування всієї тканини і органа процесів. У випадку ендокринної залози основним процесом, що перебігає у цитоплазмі клітин паренхіми, є синтез гормонів. Оскільки ми зосередили нашу увагу саме на клубочковій і пучковій зонах кори надниркових залоз, мова йде про синтез гормонів стероїдної природи, тож основна частина цитоплазми зайнята гладенькою ендоплазматичною сіткою та краплинами ліпідних включень, що є джерелом синтезу гормонів.

Показники ядерно-цитоплазматичного індексу клітин з клубочкової зони кори надниркових залоз з контрольної групи утворюють ряд з незначним стандартним відхиленням, що свідчить про однорідність морфології диференційованих ендокриноцитів (табл. 6.2). Даний індекс складає для контрольної групи в середньому 42% (перший квартал 35%; третій квартал 49%), що пояснюється активним функціонуванням цих клітин – їх ядра є крупними і світлими, цитоплазма досить компактна (рис. 6.2).

Таблиця 6.2.

Ядерно-цитоплазматичний індекс ендокриноцитів кори надниркових залоз у контрольній і експериментальних групах

Група	Контрольна		Із введенням отрути гадюки <i>Vipera berus berus</i>		Із введенням отрути <i>Vipera berus nikolskii</i>	
	Клубочкова	Пучкова	Клубочкова	Пучкова	Клубочкова	Пучкова
1	0,23	0,48	0,12	0,21	0,14	0,08
2	0,33	0,27	0,21	0,23	0,23	0,14
3	0,56	0,43	0,09	0,23	0,15	0,11
4	0,68	0,28	0,15	0,23	0,09	0,07
5	0,50	0,43	0,08	0,18	0,13	0,11
6	0,36	0,37	0,10	0,16	0,09	0,08
7	0,34	0,48	0,18	0,10	0,15	0,14
8	0,47	0,37	0,16	0,10	0,14	0,15
9	0,34	0,42	0,17	0,19	0,12	0,16
10	0,31	0,42	0,11	0,21	0,09	0,18
11	0,35	0,23	0,26	0,10	0,07	0,14
12	0,42	0,28	0,09	0,13	0,09	0,15
13	0,63	0,29	0,19	0,07	0,10	0,15
14	0,26	0,21	0,20	0,11	0,06	0,14
15	0,46	0,28	0,11	0,08	0,08	0,11
16	0,55	0,21	0,19	0,05	0,03	0,14

17	0,43	0,22	0,17	0,07	0,10	0,13
18	0,41	0,50	0,10	0,06	0,07	0,12

Продовження табл. 6.2

19	0,39	0,42	0,22	0,08	0,13	0,08
20	0,49	0,21	0,24	0,06	0,13	0,18
21	0,53	0,42	0,12	0,07	0,11	0,14
22	0,23	0,29	0,09	0,12	0,17	0,12
23	0,39	0,33	0,05	0,07	0,14	0,12
24	0,34	0,30	0,07	0,08	0,10	0,12
25	0,38	0,27	0,10	0,09	0,09	0,11
26	0,27	0,23	0,09	0,09	0,08	0,19
27	0,48	0,24	0,15	0,12	0,06	0,15
28	0,56	0,43	0,12	0,07	0,11	0,13
29	0,31	0,36	0,09	0,09	0,11	0,07
30	0,41	0,32	0,043	0,12	0,09	0,16
31	0,43	0,26	0,20	0,05	0,08	0,14
32	0,44	0,25	0,12	0,07	0,07	0,10
33	0,38	0,33	0,12	0,05	0,12	0,14
34	0,48	0,38	0,08	0,10	0,13	0,13
35	0,43	0,51	0,13	0,08	0,11	0,08
36	0,52	0,32	0,14	0,09	0,22	0,08
37	0,58	0,29	0,04	0,05	0,10	0,11
38	0,45	0,35	0,09	0,06	0,12	0,09
39	0,44	0,53	0,17	0,06	0,26	0,08
40	0,35	0,34	0,08	0,08	0,20	0,05

У клубочковій зоні кори надниркових залоз групи із введенням отрути *гадюки звичайної* ядерно-цитоплазматичний індекс має досить значне відхилення від середнього значення (табл. 6.2) і є достовірно нижчим за цей

показник у контрольній групі (рис. 6.2). Середнє значення індексу в цій групі складає 13% (перший квартал 9%; третій квартал 17%). Такий невисокий індекс свідчить про зменшення площі ядра, що імовірно спричинено його зморщуванням, адже каріопікноз супроводжує ранні стадії некрозу клітин від дії зовнішніх токсичних чинників. Одночасно з цим, розширення цистерн ендоплазматичної сітки у цитоплазмі клітин призводить до її вакуолізації. Розширення цих цистерн пов'язане з детоксикаційною функцією ендоплазматичної сітки в клітині, а вакуолі збільшують загальну площу цитоплазми.

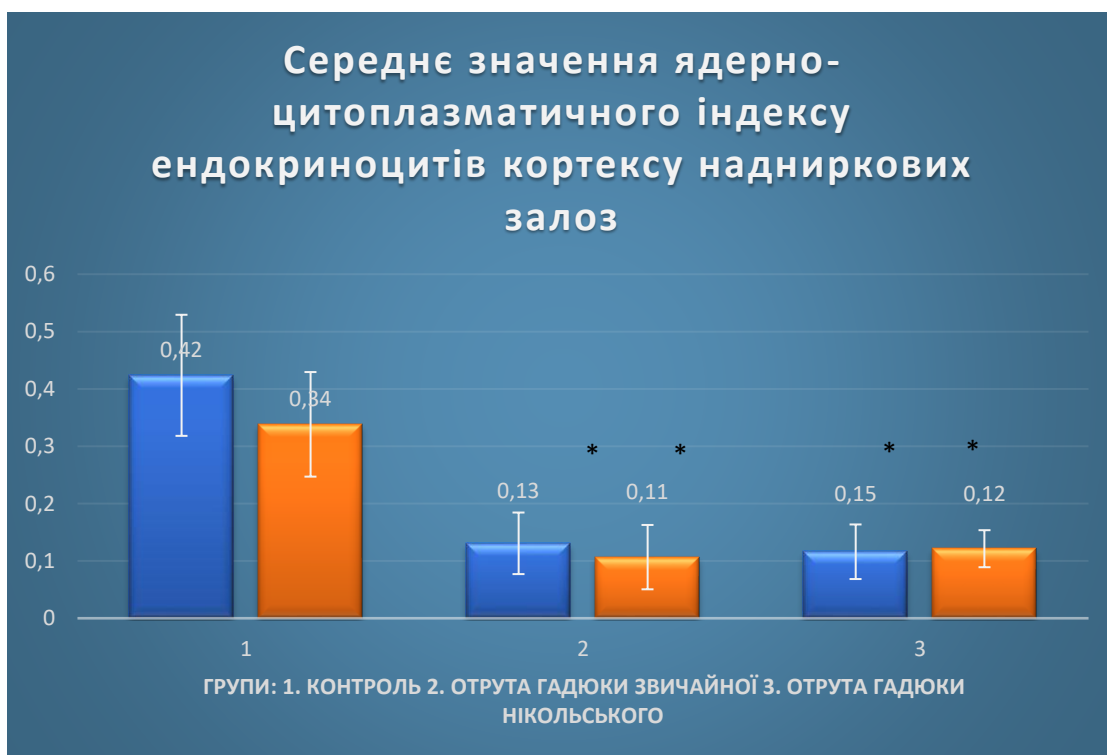


Рис. 6.2. Середнє значення ядерно-цитоплазматичного індексу у клітинах кори надниркових залоз у контрольній групі, групі із введенням отрути *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*. Ряд 1 – у клубочковій зоні; ряд 2 – у пучковій зоні. * – відмінність від контрольної групи достовірна при $p \leq 0,05$.

Якщо говорити про групу із введенням отрути *гадюки Нікольського*, то патологічний вплив цієї отрути проявляється у зниженні показників ядерно-

цитоплазматичного індексу в клітинах клубочкової зони (табл. 6.2). Середнє значення цього індексу тут складає 12% (перший квартал 8%; третій квартал 14%), що є достовірно менше за даний індекс у контрольній групі.

Зниження ядерно-цитоплазматичного індексу в обох експериментальних групах є співрозмірним (табл. 6.2), що говорить про те, що через 24 години після введення цих трут, їх дія на цей параметр є однаково негативною. Вакуолізація цитоплазми і конденсація ядра призводять до зниження функціональності клітин клубочкової зони кори надниркових залоз і порушень у їх нормальному метаболізмі.

Порівняння ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів пучкової зони кори надниркових залоз демонструє достовірне падіння цього показника в обох експериментальних групах відносно контрольної (рис. 6.2). Для групи контролю середнє значення цього індексу складає 34% (перший квартал 28%; третій квартал 42%). Третина клітини, зайнята ядром, вказує на активну роботу даних ендокриноцитів з вироблення кортизолу та інших глюкокортикоїдів – ядро має переважання еухроматину і є досить крупним, цитоплазма збагачена ліпідними включеннями, що виступають джерелом стероїдів для синтезу цих гормонів.

У групі із введенням отрути *гадюки звичайної* ряд показників ядерно-цитоплазматичного індексу демонструє його зниження (табл. 6.2). Середнє значення цього індексу складає 10% (перший квартал 7%; третій квартал 12%), що в 3 рази менше за показник групи контролю.

Подібним є падіння ядерно-цитоплазматичного індексу і у групі із введенням отрути *гадюки Нікольського* (табл. 6.2). Тут цей індекс в середньому складає 12% (перший квартал 10%; третій квартал 14%) та також достовірно відрізняється від групи контролю (рис. 6.2).

6.2. Аналітична і кількісна оцінка стану сім'яників та процесів сперматогенезу щурів з контрольної та експериментальних груп

Для оцінки впливу отрути двох видів гадюк на загальний стан статевих залоз щурів нами було проведено порівняння дискретних і безперервних змінних, які нами було підраховано і виміряно відповідно, за допомогою програми Fiji:ImageJ, між контрольною та обома експериментальними групами, що піддавались дії отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*.

Морфологічні зміни у статевих залозах щурів ми оцінювали порівнюючи площі поперечного перерізу звивистих каналців у дольках сім'яників тварин з експериментальних груп із контрольною групою та між собою. Вимірювання проводились для 40 поперечних перерізів звивистих каналців чотирьох тварин з 12-15 цифрових зображень для кожної з трьох груп, отриманих зі світлового мікроскопа на збільшенні x200. Для вірного встановлення співвідношення між точками цифрового зображення та мікрометрами, при фотографуванні на зображення наносилась мірна шкала на 0,02 мм. На нашу думку, вимірювання загальної площі перерізу сім'яних каналців характеризують такі процеси у сім'яниках, як розвиток набряку, розшарування сперматогенного епітелію та поява просвітів між його шарами, а також розширення центральних просвітів каналців.

Вплив токсинів на функціонування сім'яників (перебіг сперматогенезу в них) оцінювали за допомогою дискретного параметру – нами було підраховано кількість сперматогоній на периферії звивистих каналців, оскільки саме ці клітини, проходячи стадію проліферації, діляться мітозом і таким чином здатні поновлювати загальний пул клітин у сім'яниках для їх подальшого диференціювання. Крім того, саме сперматогонії знаходяться найближче до базальної мембрани, а отже, є найбільш вразливими до дії отрут, що надходять до яєчок з кров'ю. На відміну від пізніших стадій сперматогенезу саме сперматогонії не перебувають під захистом гемато-тестикулярного бар'єру, утвореного щільними контактами відростків клітин Сертолі, тож є найбільш вразливими до зовнішніх впливів. Для підрахунку кількості клітин використовували плагін “Cell counter” в програмі Fiji:ImageJ.

Підрахунок здійснювали для кожної групи (контрольної та двох експериментальних із введенням отрути) у 20 звивистих каналцях чотирьох тварин на 10 фотографіях з кожної на збільшенні $\times 400$. Всі дані оброблялись в Excel.

6.2.1. Оцінка площі звивистих каналців у контрольній та експериментальних групах.

Оскільки при перевірці вимірювань з контрольної та обох експериментальних груп на нормальність розподілу, графіки не відповідали кривій Гауса, нами для визначення достовірності відмінностей між групами було застосовано непараметричний критерій Манна-Уїтні.

Згідно з нашими вимірюваннями, достовірної відмінності у площі звивистих каналців тварин з контрольної групи та щурів, які піддались дії отрути гадюки *Vipera berus berus* виявлено не було (рис. 6.3). Якщо для контрольної групи середнє значення цього показника складає 47447,08 мкм² (перший квартал 40739,33 мкм²; третій квартал 52536,22 мкм²), то для групи, тварини якої піддавались впливу отрути, воно становить 46393,11 (перший квартал 40840,22 мкм²; третій квартал 50523,33 мкм²). Показники площ звивистих каналців з обох вищезгаданих груп мають незначне стандартне відхилення (рис. 6.3), що говорить про відсутність радикально розширених чи звужених каналців, що є цілком логічним для контрольної групи, де сім'яники не піддавались шкідливим впливам. У випадку тварин з групи, що піддалась дії отрути *гадюки звичайної*, імовірно, дія цієї отрути є більш заповільненою і не проявилась протягом перших 24 годин після її введення. Також варто звернути увагу на те, що зміни у складі сперматогенних клітин, співвідношення між їх популяціями, чи внутрішні запусітіння не завжди спричинюють розширення чи звуження каналців, і таким чином не відображаються на вимірюваній площі, поки не розвинуться до значної міри.

При аналізі площі звивистих каналців тварин, що зазнали дії отрути *гадюки Нікольського*, було виявлено достовірне збільшення цього параметра для даної експериментальної групи у порівнянні не лише з даними контрольної групи, але і з показниками групи, на яку діяла отрута *гадюки звичайної* (рис. 6.3). Тут середнє значення площі досягає 99581,44 мкм² (перший квартиль 67896,33 мкм²; третій квартиль 110497,4 мкм²). Вражаюча дія отрути цього виду гадюк є швидкою і призводить до розвитку набряків у звивистих каналцях, та розширення їх внутрішніх просвітів, що підтверджується даними гістологічних досліджень. Дані процеси загалом деформують звивисті каналці та призводять до збільшення їх площі, що і відображено у статистичних даних. При цьому варто відзначити значне стандартне відхилення для показників саме цієї групи тварин (рис. 6.4), що свідчить на користь того, що патологічні зміни є досить хаотичними, розповсюджуються не на всі звивисті каналці, і іноді призводять не лише до їх розширення, але і до звуження.



Рис. 6.3 Середнє значення площі сім'яних каналців у контрольній групі, групі із введенням отрути *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*. * – відмінність від контрольної групи та групи із введенням отрути *Vipera berus berus* достовірна при $p \leq 0,05$.

6.2.2. Оцінка кількості сперматогоній у звивистих каналцях контрольної та експериментальних груп.

Підрахунки кількості сперматогоній у звивистих каналцях сім'яників є зручним і показовим методом оцінки стану процесів сперматогенезу у тварин з експериментальних груп під впливом певних токсинів. Побудова графіків нормального розподілу на основі даних підрахунку не показала кривої Гауса, тож нами знову було застосовано критерій Манна-Уїтні для порівняння груп.



Рис. 6.4. Індивідуальні показники площі сім'яних каналців сім'яників тварин з контрольної та експериментальних груп зі стандартним відхиленням. Ряд 1 – контрольна група; ряд 2 – група із введенням отрути гадюки *Vipera berus berus*; ряд 3 – група із введенням отрути *Vipera berus nikolskii*.

При порівнянні обох експериментальних груп із контрольною нами було виявлено статистично достовірне згідно критерію Манна-Уїтні зменшення кількості сперматогоній у них (рис. 6.5). Якщо у контрольній групі в середньому на поперечний переріз одного звивистого каналця припадає 63,5 сперматогонії (перший квартал 59,5; третій квартал 70), то для групи із введенням отрути гадюки звичайної кількість цих клітин різко

спадає до середнього значення у 42,95 клітин (перший квартал 40; третій квартал 48,5).

Найнижчим даний показник є у групі із введенням отрути *гадюки Нікольського*, тут він складає в середньому 33,7 клітин на 1 переріз каналця (перший квартал 28; третій квартал 38,5). Цікаво відмітити, що зниження кількості сперматогоній у цій експериментальній групі є статистично достовірним не лише у порівнянні з контролем, але і з іншою експериментальною групою у цьому дослідженні. Це свідчить на користь більш значної ушкоджуючої дії отрути *гадюки Нікольського* на репродуктивну функцію враженого організму.



Рис. 6.5. Кількість сперматогоній у поперечному перерізі звивистого каналця у контрольній групі, групі із введенням отрути *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*. * – відмінність від контрольної групи достовірна при $p \leq 0,05$; ** – відмінність від групи із введенням отрути *Vipera berus berus* достовірна при $p \leq 0,05$.

Ці статистичні показники є досить логічними і пояснюються тим, що серед клітин сперматогенного ряду саме стовбурові клітини – сперматогонії, які ми і вирішили рахувати, є найбільш прилеглими до базальної мембрани

звивистих каналців. Тому ці клітини перебувають найближче до капілярів інтерстицію яєчок. Таке відчутне зменшення у кількості цих клітин свідчить на користь того факту, що отрута потрапляє в сім'яники саме з током крові. На жаль, також це говорить про те, що отрута обох видів гадюк має швидку і руйнівну дію на популяцію стовбурових статевих клітин, а отже, на репродуктивну функцію. Як уже згадувалось раніше, при оцінці враження клітин сперматогенного епітелію токсинами, що надходять до яєчок із кров'ю, варто враховувати не лише їх наближеність до капілярів інтерстицію, але і компартмент каналців, в якому вони розміщуються. Оскільки сперматогонії знаходяться в базальному компартменті, вони не відділені гемато-тестикулярним бар'єром від кровоносних судин. Клітини більш пізніх стадій сперматогенезу перебувають в адлюмінарному компартменті, і відділені від зайвих зовнішніх агентів щільними контактами, утвореними між клітинами Сертолі.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті фахового журналу (Україна), що відноситься до наукометричної бази Scopus [153] та двох тезах науково-практичних конференцій [23, 24].

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Серед числених ускладнень, пов'язаних з ураженням надниркових залоз при укусах змій, і гадюк зокрема, перше місце займають крововиливи і гостра надниркова недостатність. Під час розтинів найчастіше були зафіксовані крововиливи. У більшості випадків характерна гематома надниркових залоз, причому в 25% випадків відмічається двосторонній крововилив, у 6% випадків – ішемічний некроз. Як і гіпофіз, надниркові залози мають дуже добре кровопостачання, тому за етіологією геморагічних ускладнень, крововиливи в надниркові залози прирівнюють до синдрому Уотерхауса-Фрідеріксена. Оскільки отрута містить як активні прокоагулянтні компоненти, так і ті, що викликають кровотечі, характерним явищем є розвиток ДВЗ-синдрому, вище вказаних крововиливів і некрозу надниркових залоз [50].

За даними наукової літератури, при дослідженні впливу отрути *Bothrops venezuelensis* на морфологічні зміни в надниркових залозах експериментальних тварин результати демонструють, що за цих умов у судинах кори надниркових залоз виявляється порушення цілісності ендотеліальної вистилки та випинання епітеліальних клітин у просвіт капілярів. Адренкортикотропоцити містять круглі та овальні трубчасті утворення, які, ймовірно, належали до гладкого ендоплазматичного ретикулуму. Спостерігаються набряклі мітохондрії з невеликою кількістю кристалів. Клітинні ядра мали нечіткі контури, збагачені гетерохроматином; перинуклеарний простір значно розширився. Визначено наявність комплексу Гольджі, набряклої гранулярної ендоплазматичної сітки та аутофагосом. Були помітні краплі ліпідів з різною електронною густиною. Біля мітохондрій спостерігалися гранули ліпофусцину. Через 6 годин після введення отрути результати показали наявність фібробластів з подовженими ядрами в клітинах кори надниркових залоз. Ці клітини розташовувалися між

плазмалеомою адренкортикотропоцитів і стінкою капіляра. Виявлено здуття цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Мітохондрії дезорганізовані, а в цитоплазмі видно ліпідні включення. Спостерігалися химерні утворення в цитоплазмі, подібні за будовою до ядра, оточені оболонкою. Ліпідні включення мали високу електронну щільність. Через 24 години експерименту в ендотеліальній оболонці судин надниркових залоз відмічали фенестри та окремі ділянки з порушенням цілісності. Відмічається невелика кількість ліпідних крапель в клітинах кори надниркових залоз, наявність цистерн і каналців гладкої ендоплазматичної сітки, численні набряклі мітохондрії, мультивезикулярні тільця та лізосоми. У деяких ядрах цих клітин перинуклеарний простір розширено. У деяких місцях спостерігалися ядра без гетерохроматину і ті, що містять електронно-щільні тільця, які, ймовірно, відповідають ядрцям, але їх характерна структура була втрачена. Ці морфологічні зміни в структурній організації надниркових залоз автори пов'язують з впливом основних компонентів отрути, а саме протеаз, PLA і численних неферментативних токсинів [89].

За даними дослідників, отрута *Crotalus rivanorum* викликає порушення нормальної гістоархітектоніки надниркових залоз щурів. Встановлено, що через 3 години після його введення дослідним тваринам у клітинах кори органу виявляються набряк мітохондріальних крист, цистерн гладкої ендоплазматичної сітки, наявність тілець Вейбеля-Паладе, електронно-щільних ліпідних крапель. У той же час, окремі мітохондрії мають трубчасті кристи. Через 6 годин дослідження в кірковій речовині надниркових залоз виявляються капіляри, всередині яких зосереджена значна кількість еритроцитів. У деяких ендокриноцитах спостерігалось підвищення секреторної активності, що проявлялось у збільшенні органел, відповідальних за продукцію та синтез біологічно-активних речовин. Мітохондрії мали підвищену електронну щільність. Ліпідні краплі присутні у значній кількості, а об'єм гладкої ендоплазматичної сітки зменшувався. Ядра мали різну електронну щільність і вміст гетерохроматину, а каріолема

мала ознаки набухання. У деяких місцях були ідентифіковані клітини, де спостерігалось набухання або втрата мітохондріальних крист, явища аутофагії. Через 24 години експерименту було виявлено порушення структурної організації стінок капілярів. В останніх відбувалось відшарування ендотелію від базальної мембрани, просвіт капілярів заповнений еритроцитами. Ендотеліоцити втратили електронну щільність цитоплазми, мітохондрії не мали крист. У цитоплазмі адренкортикотропоцитів виявлені ліпідні краплі, лізосоми та мітохондрії з дегенеративними змінами кристалів. Ядерна оболонка клітин кори надниркових залоз набрякла, також видно дегенеративні процеси. У деяких клітинах цитоплазма містила гладку ендоплазматичну сітку і мала початкові ознаки некрозу. Слід зазначити, що під час цього дослідження вчені приділили особливу увагу структурним змінам мітохондрій. Так, під час їх ультраструктурного аналізу через 3 години експерименту спостерігалось збільшення міжмембранного простору мітохондрій, ознаки їх аутофагії та порушення цілістності крист. У деяких місцях спостерігались порушені ділянки внутрішньої мітохондріальної мембрани. Через 6 годин відмічалось характерне пошкодження мембран органел і вакуолізація матриксу. На 24-ту годину дослідження відзначають ще більш значне розширення міжмембранного простору, підвищення електронної щільності мітохондріального матриксу, розриву, руйнування мембран та зникнення або руйнувань крист. Автори вважають, що отрута цих гадюк має токсичну дію на органели через дію протеаз і PLA [88].

Дані нашого дослідження дозволяють відзначити більш виражений вплив отрути *Vipera berus berus* саме на зовнішні клубочкову та пучкову зони кори надниркових залоз, більшість з морфологічних ознак патології в яких була спричинена порушенням протеїнового обміну у клітинах паренхіматозних та стромальних елементів цього органу. Так, клітини паренхіми утворюють округлі скупчення, розділені елементами строми. Ядра іноді втрачають чіткість контурів, багато з них є гіперхромними, а ті, що

зберігають світле забарвлення, характеризуються утворенням грудок гетерохроматину, що часто скупчуються під нуклеолою. Гіперхромні ядра, у свою чергу, мають нерівний контур з ознаками ранніх етапів каріопікнозу, що є логічною реакцією клітини на інтоксикацію. Цитоплазма ендокриноцитів характеризується вакуолізацією, в деяких ділянках профарбовується нерівномірно, їй також притаманна зернистість. Наявність такої зернистості може бути пов'язана з протеолітичними процесами в цитоплазмі, що призводять до накопичення еозинофільних грудочок протеїна у цитоплазмі.

У пучковій зоні відмічались стовпчики інтенсивно еозинофільних клітин, цитоплазмі яких притаманна яскраво виражена зернистість, межі клітин дещо втрачають чіткість та стають розмитими; в самій цитоплазмі спостерігаються розшарування у вигляді білих просвітів з нерівними краями на еозинофільному фоні, що не є звичайним виглядом ліпідних включень для подальшого синтезу гормонів. Зростає кількість перинуклеарних набряків, самі ядра інтенсивно профарбовуються, мають чіткі межі та звичайну форму з гладенькими межами без ознак зморщування. Між клітинами іноді спостерігається наявність досить крупних позаклітинних вакуолей.

Проте, найбільш вразливою до дії отрути гадюки *Vipera berus nikolskii* виявилась пучкова зона кори надниркових залоз, значною мірою через порушення структури судин та крововиливи в оточуючі інтерстицій та паренхіму. Клітини зберігали загальну організацію, формуючи стовпчики, проте між цими стовпчиками виявлялись просвіти. Самі колонки клітин не прилягали щільно одна до одної. Цитоплазма зберігає еозинофільність, проте стає зернистою, в ній зменшується кількість ліпідних включень, що може свідчити про зниження рівня синтезу глюкокортикоїдів. Межі клітин часто є розмитими, ядра проявляють гіперхромність, подекуди є дещо деформованими та мають шипуваті контури, що може говорити про ранні етапи каріопікнозу. Крупні вени в мозковій речовині також мають явні

ознаки порушень у кровотоці, вони заповнені плазмою із зосередженням формених елементів крові на периферії.

Отже, вплив отрут гадюк *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* дещо відрізнявся у проявах і локалізації, проте певні тенденції є спільними. Зокрема, жодна з отрут не має морфологічно задокументованого впливу на сітчасту зону кори надниркових залоз та їх стромальний компонент. Тварини, які отримували дозу отрути степової гадюки мають більш стриманий прояв патології у клубочковій і пучковій зонах, в той час як отрута гадюки Нікольського викликає значні зміни в пучковій зоні та крупних судинах мозкової речовини. Специфічна вразливість кожної з зон кори надниркових залоз до певної отрути пов'язана з фізіологічною роллю та метаболічною активністю цієї зони. Оскільки, за даними біохімічних досліджень отрути степової гадюки та гадюки Нікольського містять фосфоліпази, їх вплив на функціонування клубочкової і пучкової зон може бути пов'язаний з порушенням метаболічних каскадів синтезу стероїдних гормонів. Крім того, згідно з біохімічним аналізом, отрута *Vipera berus nikolskii* містить значну кількість фосфоліпаз (більше 60%), що і пояснює її інтенсивніший патологічний вплив на кору надниркових залоз і на пучкову зону зокрема.

За даними проведеного нами статистичного аналізу кількісної оцінки стану кіркової речовини надниркових залоз відмічається майже однаковий вплив отрут обох видів змій на клітинному рівні – достовірно, відносно групи контролю, зниження ядерно-цитоплазматичного індексу. Зокрема, при впливі отрути степової гадюки, цей показник знижується в три рази, що може говорити не лише про вакуолізацію цитоплазми, а і про розвиток у ній набряку, що є проявом некротичних процесів у ендокриноцитах. На тлі дії отрути *Vipera berus nikolskii* спостерігається аналогічні зміни. Така подібність у даному показнику між отрутами обох гадюк свідчить про те, що на рівні клітини їх дія проявляється рівною мірою вже через 24 години після їх потрапляння в організм – імовірно, в клітині порушується енергетичний обмін, що призводить до дезорганізації роботи іонних pomp і подальшого

надходження води в клітину, через що її цитоплазма набрякає. Кількісно це відображається на ядерно-цитоплазматичному індексі, а функціонально – на зниженні можливості цих клітин виробляти глюкокортикоїди.

При цьому на тканинному рівні дія отрути *Vipera berus nikolskii* проявляється яскравіше, ніж *Vipera berus berus* – про це свідчить вищий ступінь порушення структури гемомікроциркуляторного русла у корі надниркових залоз тварин з групи, на яку діяла ця отрута. Вона призводила не лише до підвищення площі судин через їх розширення, але і до розривів їх стінок і крововиливів в оточуючі паренхіму і строму.

Вивчення впливу зміїної отрути на яєчко пов'язане з його основними функціями, які мають складні механізми регуляції. Такі фактори, як активний мітоз, наявність гематотестикулярного бар'єру, сперматогенний цикл і гормональний контроль ускладнюють реакцію цього органу на зовнішні токсичні фактори. Необхідно аналізувати первинну токсичність – безпосередній вплив отрути на сперматогенний епітелій. Крім того, існує кілька непрямих факторів впливу отрути на цей орган, пов'язаних з регуляцією його функцій і кровопостачання. Зокрема, непрямий гормональний вплив на сперматогенез і порушення кровообігу в яєчку також може призвести до патологічних змін. У гістологічній оцінці тестикулярної токсичності корисними є гістологічні моделі токсичних уражень, спричинених різними хімічними речовинами, класифіковані на основі їх механізмів дії.

Дослідження впливу токсичних сполук на структуру та функцію яєчка переконливо свідчать про те, що ранні зміни, а не ті, що відбуваються пізніше, є корисними для розуміння механізмів їх дії. Це спостереження корелює з нашим дослідженням, оскільки ми вивчали морфологію яєчок через 24 години після введення зміїної отрути.

Результати нашого дослідження підтверджують потужність впливу токсинів *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* на патологічні зміни стромы та паренхіми сім'яних каналців у щурів. Отримані результати свідчать про

помітну тенденцію до агрегації формених елементів у просвітах кровоносних судин, значне збільшення загибелі сперматогоніїв і цитоплазматичного набряку в клітинах сперматогенного ряду. Крім того, розширення просвіту каналців, або їх обструкція прикріпленими агрегатами статевих клітин на різних стадіях розвитку, підтверджує швидкий і сильний вплив отрути на формування зародкових клітин у цій залозі.

При цьому варто відзначити більш виражену дію отрути гадюки Нікольського на сім'яники. На відміну від дії отрути *Vipera berus berus*, при впливі отрути гадюки Нікольського уражалися паренхіматозні та стромальні елементи яєчок. На фоні капсули, яка практично не змінилася, трабекули характеризуються відносно великими вакуолями і нерівномірно забарвленими ядрами фібробластів, в яких відзначається темний гетерохроматин на більш світлому фоні.

Дія отрути гадюки Нікольського на яєчка досить виразна. Хоча звивисті каналці зберігають свою загальну архітектуру та правильну форму, сполучнотканинні перегородки між ними тонкі та непроліферативні. Проте є помітні ознаки порушення процесів сперматогенезу в цих каналцях. Зокрема, спостерігається значне зменшення загальної площі сперматогенного епітелію в порівнянні з центральним просвітом каналця. Крім того, спостерігається збільшення кількості клітин Сертолі, що вказує на потенційну їх стійкість до патогенної дії отрути внаслідок зрілості даних клітин та диференціації з клітин сперматогенного епітелію.

За результатами проведеної нами обробки дискретних та безперервних даних підрахунків та вимірювань у сім'яниках тварин з контрольної та експериментальних груп, варто відмітити, що отрути як *Vipera berus berus* так і *Vipera berus nikolskii* спричиняють статистично достовірний негативний вплив на репродуктивну функцію щурів, що піддавались їх дії.

Це відображено у падінні кількості сперматогоній у цих групах, що є достовірним відносно групи контролю. Зокрема, для групи із введенням отрути гадюки звичайної кількість цих клітин різко спадає до середнього

значення у 42,95 клітин, а при впливі отрути гадюки Нікольського вона складає, взагалі, в середньому 33,7 клітин на 1 переріз каналця.

При цьому, також лише отрута *Vipera berus nikolskii* має настільки руйнівний вплив на каналці сім'яників, що призводить до статистично достовірного зростання їх площі (середнє значення площі досягає 99581,44 мкм², на відміну від показників в групі впливу отрути *Vipera berus berus* - 46393,11 мкм²).

Ajisebiola B. S. та ін. [33] встановлено, що отрута *Naja nigricollis* викликає розвиток морфологічних і біохімічних змін у тканині сім'яників піддослідних тварин. У щурів за цих умов виявлено атрофію каналцевого епітелію ячок, значне зменшення кількості сперматогенних клітин, їх некроз, спотворення структури зародкового епітелію. У тканині органу знижується активність каталази та глутатіонпероксидази, відзначається підвищення малонового діальдегіду, IL-1 β та TNF- α .

За даними вчених, токсини з отрути *Echis ocellatus* викликають розвиток запального процесу в тканині сім'яника щурів, дегенеративні зміни зародкового епітелію та епітелію сім'яних каналців, атрофію каналців [34].

Alberto-Silva C. зі співавторами [37] в досліджах на щурах, яким вводили зміїну отруту *Bothrops jararaca*, спостерігали порушення цілісності епітеліального покриву сім'яних каналців, відсутність у них сперматид. Місцями виявлені дегенеративні зміни сім'яних каналців, збільшення їх діаметра, розширення просвіту. Також зменшилась кількість пахітенових сперматоцитів, округлих сперматид і плуріпотентних сперматоцитів. При цьому загальна резистентність клітин Сертолі також змінилася. Дослідження інших вчених щодо впливу токсичних компонентів отрути цих змії показали наявність мікроскопічних змін у структурі зародкового епітелію в адлюменальній частині ячка, присутні атипові багатоядерні клітини в просвіті сім'яних каналців [92].

Зниження рівня загального протеїна пов'язане з активацією процесів деградації в надниркових залозах і яєчках після дії отрут гадюки *V. berus*

berus і *V. berus nikolskii* разом з гіперактивацією протеолітичних систем і катаболічних процесів. Зміни в протеїново-синтетичних процесах, як припущення, мають низьку ймовірність обґрунтованості, враховуючи різні часові рамки трансформації синтетичних механізмів і час, витрачений на цей експеримент. Вплив отрути *V. berus nikolskii* є більш значним в обох органах порівняно з *V. berus berus*, що доводить наявність більш потужних ефекторних молекул, відповідальних за ініціювання каскадних реакцій, які призводять до деградації протеїна. Крім того, загальне зниження загального протеїна більш помітне в надниркових залозах, ніж у яєчках.

При проведенні аналізу протеїнового профілю методом дискового електрофорезу в ПААГ з присутністю ДСН підтверджено прогресування протеолітичних процесів у надниркових залозах і яєчках під впливом досліджуваних отрут. В обох органах під дією отрут відмічається перерозподіл протеїнових фракцій у бік низької молекулярної маси. Відповідно, спостерігається активація процесів дегенерації, що призводить до збільшення молекул з молекулярною масою 35-10 кДа і появи молекул з молекулярною масою <10 кДа під дією отрути як в яєчках, так і під дією отрути *V. berus nikolskii* в надниркових залозах, утворення яких пов'язане з прямою протеолітичною дією в досліджуваних органах. Безпосередню участь органів доведено на основі відсутності таких молекул у контрольованих тканинах. Крім того, досліджено появу нової фракції протеїнів з молекулярною масою понад 150 кДа в тканинах надниркових залоз під дією отрути *V. berus berus*, що можна пояснити утворенням ковалентних комплексів специфічних деградованих протеїнів або, ймовірно, агрегацією ферментів з їх інгібіторами.

Аналіз даних, що відповідають впливу компонентів досліджуваних отрут на активність ферментів, відповідальних за перерозподіл розщеплення желатину, показує появу більш активних зон протеолітичної активності в діапазоні молекулярних мас 100-67 кДа та 67-35 кДа, що може свідчити або про підвищення активності окремих протеолітичних ферментів під дією

отрут, або про утворення нефізіологічно деградованих форм ферментів. Посилення активності фізіологічно неактивних ферментів пояснюється дією отрут, які змінюють метаболізм уражених клітин. Навпаки, гіперактивація протеолітичних процесів може призвести до підвищення рівня змінених і злегка деградованих протеїнів, які залишаються активними, але зі зміненою субстратною специфічністю, що призводить до перерозподілу в біохімічних процесах у такий, який не властивий фізіологічному стану.

Оскільки фібриноген є типовим протеїном, присутнім у крові лише у фізіологічному стані, поява в органах ферментів, які можуть здійснювати фібриногенолітичну активність, свідчить про активацію патологічних процесів. Щодо відсутності в контрольованих тканинах активних протеолітичних ферментів з фібриногенолітичною активністю та наявності таких активних молекул в органах під впливом отрути гадюки, а також враховуючи факт кореляції появи активних ферментів із субстратною специфічністю до фібриногену в тканинах з патологічними процесами, можуть спостерігатися зміни біохімічних механізмів у досліджуваних органах, що призводить до посилення патологічних змін. Появу таких ферментів можна пояснити синтезом активних фібриногенолітичних ферментів або створенням деградованих/аномальних молекул ферментів, субстратна специфічність яких змінилася в бік фібриногену.

Зміни ферментативної активності по відношенню до колагену під впливом отрути гадюки пов'язані з утворенням знову деградованих ферментів зі зміненою субстратною специфічністю та патологічним посиленням протеолітичних процесів, що призводить до активації певних колагенолітичних ферментів.

Усі отримані раніше дані підтверджують припущення про патологічну активацію протеолітичних шляхів під дією отрути, що призводить до зміни субстратної специфічності та призводить до змін біохімічного ланцюга в цілому організмі.

Для уточнення даних було проведено спостереження за утворенням молекул з низькою молекулярною масою, наявність яких прямо корелює з початком процесів внутрішньої інтоксикації в досліджуваних органах. Проведена експериментальна робота показує значне збільшення молекул з низькою молекулярною масою під впливом отрути гадюки в надниркових залозах і яєчках, доводячи патологічний вплив досліджуваних отрут на біохімічні ланцюги в цільових тканинах, що призводить до токсичності.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання щодо встановлення морфологічних та біохімічних параметрів структури надниркових залоз та сім'яників при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

1. Отрути гадюк *Vipera berus* не мають морфологічно задокументованого впливу на сітчасту зону кори надниркових залоз та їх стромальний компонент. На тлі дії отрути степової гадюки спостерігається стриманий прояв морфологічних змін у клубочковій і пучковій зонах. Отрута гадюки Нікольського викликає значні зміни в пучковій зоні та крупних судинах мозкової речовини надниркових залоз, що може бути пов'язане з вмістом значної кількості фосфоліпаз, а також порушенням метаболічних каскадів синтезу стероїдних гормонів в цих ділянках.

2. При дослідженні гістологічних змін сім'яників щурів на тлі впливу отрут *Vipera berus* спостерігається агрегація формених елементів у просвітах судин, значний рівень загибелі сперматогоній та набряку у цитоплазмі більш пізніх клітин сперматогенного ряду. Швидка і потужна дія отрут гадюк *Vipera berus* на процеси формування статевих клітин в сім'яниках підтверджується розширенням просвіту каналців та блокуванням їх агрегатами злиплих статевих клітин на різних стадіях розвитку. Відмічається більш різко виражена дія на сім'яники саме отрути *Vipera berus nikolskii*.

3. За результатами проведеної обробки дискретних та безперервних даних підрахунків та вимірювань стану кіркової речовини надниркових залоз відмічається однаковий вплив отрут обох видів змій на клітинному рівні – достовірне, відносно групи контролю (середнє значення 42%), зниження ядерно-цитоплазматичного індексу (13% клубочкова та 10% пучкова зони при дії отрути гадюки звичайної та 12% і 12% відповідно при дії отрути гадюки Нікольського). На тканинному рівні спостерігається вищий ступінь

порушення структури гемомікроциркуляторного русла у корі надниркових залоз тварин під дією отрути *Vipera berus nikolskii*, що призводило не лише до підвищення площі судин через їх розширення (2915,71 мкм² проти 445,29 мкм² в контрольній групі та 1298,39 мкм² при дії отрути *Vipera berus berus*), але і до розривів їх стінок і крововиливів в оточуючі паренхіму і струму.

У сім'яниках отрута *Vipera berus* спричиняє статистично достовірний негативний вплив на репродуктивну функцію щурів, що піддавались її дії. Кількість сперматогоній різко спадає (42,95 клітини при дії *Vipera berus berus* і 33,7 клітин на 1 переріз каналця при дії *Vipera berus nikolskii*). Лише отрута *Vipera berus nikolskii* має настільки руйнівний вплив на каналці сім'яників, що призводить до статистично достовірного зростання їх площі (середнє значення площі досягає 99581,44 мкм², на відміну від показників в групі впливу отрути *Vipera berus berus* - 46393,11 мкм²).

4. Дія отрут *Vipera berus* на досліджувані органи полягає в патологічній активації протеолітичних процесів, перерозподілу протеїнових фракцій (поява протеїнових молекул в діапазоні 150 кДа та вище; збільшення низькомолекулярних фракцій протеїнових молекул, поява протеїнових молекул в діапазоні ≤ 10 кДа), появи протеїнових молекул зі зміненими субстратними специфічностями (збільшення кількості активних зон протеолітичної активності в діапазонах молекулярних мас - 100-67 кДа та 67-35 кДа) та пептидних молекул, які можуть бути принципово новими лігандами в складній сигнальній системі організму. Поява деградованих форм ферментів та потенційна зміна їх субстратної специфічності є тригером, який запускає патологічні процеси на рівні біохімічних каскадів як досліджуваних органів, так і на рівні цілого організму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Багрій, М. М., Діброва, В. А., Попадинець, О. Г. & Грищук, М. І. (Ред.). (2016). *Методики морфологічних досліджень*. Вінниця: Нова Книга.
2. Білаш, С. М., & Донченко, С. В. (2020). Морфофункціональний стан наднирників при дії комплексу харчових добавок (огляд літератури). *Вісник проблем біології і медицини*, 3 (157), 13-19. Doi: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-13-19.
3. Борецький, Г. Г. (2017). Патофізіологічні та морфологічні особливості змін в адренкортикоцитах пучкової зони наднирників за умов дії червоного шלאму. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (135), 269-273.
4. Борецький, Г., & Рожков, І. (2016). Ультраструктурні зміни адренкортикоцитів пучкової зони наднирників за умов тривалої дії червоного шלאму. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 74, 184-192.
5. Варецька Т.В. (1960). Мікрогетерогенність фібриногену. Кріофібриноген. *Укр. біохім. журн.*, 32 (2), С.13-24.
6. Войцех, П., & Росс, М. Г. (2021). *Гістологія: підручник і атлас. З основами клітинної та молекулярної біології: пер. з англ. 8-го вид. у 2 т. Т. 2*. Київ: ВСВ «Медицина».
7. Глодан, О. Я. (2014). Гісто- та ультраструктурні зміни у звивистих сім'яних трубочках в умовах рентгенівського опромінення. *Світ медицини та біології*, 4 (47), 101-104.
8. Горальський, Л. П., Хомич, В. Т., & Кононський, О. І. (2011). *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології*. Житомир: Полісся.
9. Гринцова, Н. Б., Романюк, А. М., & Бумейстер, В. І. (2019). Морфологічна перебудова кіркової речовини наднирників щурів за умов довготривалого впливу солей важких металів та негормональної корекції. *Морфологія*, 3 (13), 26-31. Doi: 10.26641/1997-9665.2019.3.26-31.

10. Гринцова, Н. Б., Романюк, А. М., Бумейстер, В. І., Кіптенко, Л. І., & Пернаков, М. С. (2019). Морфофункціональні перебудови кіркової речовини наднирників статевозрілих щурів за умов довготривалого впливу солей важких металів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 1 (23), 54-58. Doi: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(1)-08.
11. Гринцова, Н. Б., Романюк, А. М., Линдін, М. С., & Рябенко, Т. В. (2020). Морфофункціональні перебудови кіркової речовини наднирників статевозрілих щурів за умов експериментального мікроелементозу. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*, 34, 141-150.
12. Дзевульська, І. В. (2015). Місячна динаміка ультраструктурних змін надниркових залоз щурів після термічної травми шкіри за умов застосування перших сім діб 0,9 % розчину NaCl. *Світ медицини та біології*, 3 (52), 91-98.
13. Держинський, М. Е., Скрипник, Н. В., Островська, Г. В., Гарматіна, С. М., Пазюк, Л. М., Бузинська, Н. О., ... Вороніна О. К. (2010). *Загальна цитологія і гістологія: підручник*. Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет».
14. Добреля, Н. В., Бойцова, Л. В. & Данова, І. В. (2015). Правова база для проведення етичної експертизи доклінічних досліджень лікарських засобів з використанням лабораторних тварин. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2, 95-100.
15. Дусик, А. В., & Голубовський, І. А. (2016). Морфофункціональні зміни в наднирниках при хронічному стресі. *Вісник проблем біології і медицини*, 2 (127), 188-191.
16. Луцик, О. Д., Чайковський, Ю. Б., Барінов, Е. Ф., Білаш, С. М., Білий, Р. О., Бобришева, І. В., ... Яценко, А. М. (2018). *Гістологія. Цитологія. Ембріологія: підручник*. Вінниця: Нова Книга.
17. Маляр-Газда, Н. М., & Борсенко, М. І. (2014). Гемодинамічні параметри кровоплину та динаміка інтоксикаційного синдрому у пацієнтів після укусу отруйних змій. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина»*, 2 (50), 17-20.

18. Мельницька, Г. М., & Погоріла, І. О. (2015). *Отруйні змії України. Біологічні дослідження: збірник наукових праць*. Житомир: ПП «Рута», 394-397.
19. Мішалов, В. Д., Кривко, Ю. Я., & Єрошенко, Г. А. (2016). Сучасні уявлення про механізми пошкодження гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи при термічних травмах шкіри. *Вісник морфології*, 1 (22), 195-198.
20. Нефьодова, О. О., Грузд, В. В. (2023). Експериментальне вивчення динаміки морфологічних змін яєчка щура при хронічному впливі хлориду кадмію. *Морфологія*, 17 (4), 34-40.
21. Николайчик В.В. (1991). Способ определения средних молекул. *Лаб. дело.*, 10, 13-18.
22. Ніязметов Т. С, Дзевульська І. В, Іскра Ю. А. (2023). *Аналіз протеїнового профілю наднирників та сім'яників за умов впливу отрути гадюк виду *vipera berus berus**. Тези опубліковані в матеріалах ХІХ Наукової конференції “Львівські хімічні читання – 2023”, Львів (стор. 182)
23. Ніязметов Т. С, Семеник В. М. (2024). *Зміни площі мікроциркуляторного русла у кірковій речовині наднирників за умов впливу отрути гадюк виду *vipera berus berus**. Тези опубліковані в матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Modern problems of science, education and society. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference». SPC “Sci-conf.com.ua”, Kyiv (Pp. 188-191).
24. Ніязметов Т. С, Семеник В. М. (2024). *Зміни ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів клубочкової та пучкової зон кори надниркових залоз за умов впливу отрути гадюк виду *vipera berus berus**. Тези опубліковані в матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Current challenges of science and education. Proceedings of the 5th International scientific and practical conference, Berlin, Germany (Pp. 93-98).
25. Пастухова, В. А. (2009). Характеристика структурних змін в яєчку при хронічній гіпертермії. *Таврический медико-биологический вестник*, 1 (45), 141-143.

26. Степанюк, Г. І., Тозюк, О. Ю., Король, А. П., & Кривов'яз, О. В. (2017). Вплив натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-їлтію) ацетату на гістоструктуру наднирників щурів за умов хронічного іммобілізаційного стресу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 1 (52), 61-66.
27. Титаренко, В. М. (2018). Гістоструктурні реакції мозкової речовини надниркової залози при опіку. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 4 (17), 46-49. Doi: 10.24061/1727-0847.17.4.2018.8.
28. Титаренко, В. М., & Пастухова, В. А. (2019). Зміни метаболічних показників мозкової речовини надниркової залози при термічному опіку та їх корекція. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (150), 212-216. Doi: 10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-212-216.
29. Шальнєв, О. Ю., Шилан, В. І., & Шилан, К. В. (2016). Смерть від отруєння зміїною отрутою, як наслідок укусу гадюки. *Судово-медична експертиза*, 2, 85-87.
30. Шарапова, О. М. (2016). Аналіз результатів морфологічного дослідження яєчок щурів, опромінених електромагнітним полем із одночасним отриманням настоянки ехінацеї пурпурової. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*, 2 (15), 39-41.
31. Abd El-Aziz, T. M., Shoulkamy, M. I., Hegazy, A. M., Stockand, J. D., Mahmoud, A., & Mashaly, A. M. A. (2020). Comparative study of the in vivo toxicity and pathophysiology of envenomation by three medically important Egyptian snake venoms. *Arch Toxicol*, 94 (1), 335-344. Doi: 10.1007/s00204-019-02619-y.
32. Abdelaleem, S. A., Hassan, O. A., Ahmed, R. F., Zenhom, N. M., Rifaai, R. A., & El-Tahawy, N. F. (2017). Tramadol induced adrenal insufficiency: histological, immunohistochemical, ultrastructural, and biochemical genetic experimental study. *J Toxicol*, 2017: 9815853. Doi: 10.1155/2017/9815853.
33. Ajisebiola, B. S., Adeniji, O. B., James, A. S., Ajayi, B. O., & Adeyi, A. O. (2022). *Naja nigricollis* venom altered reproductive and neurological

functions via modulation of pro-inflammatory cytokines and oxidative damage in male rats. *Metabol Open*, 14: 100188. doi: 10.1016/j.metop.2022.100188.

34. Ajisebiola, B. S., Alamu, P. I., James, A. S., & Adeyi, A. O. (2022). Echis ocellatus Venom-Induced Reproductive Pathologies in Rat Model; Roles of Oxidative Stress and Pro-Inflammatory Cytokines. *Toxins (Basel)*, 14 (6): 378. doi: 10.3390/toxins14060378.

35. Akin, S., Bastug, M., Colak, R., Ficicilar, H., Saglam, B. S., Kosar, N. S., ... Demirel, H. (2021). Possible adaptation of the adrenal gland Hsp72 expression to hypoxic stress. *High Alt Med Biol*, 22 (3), 293-299. Doi: 10.1089/ham.2021.0025.

36. Alangode, A., Rajan, K., & Nair, B. G. (2020). Snake antivenom: Challenges and alternate approaches. *Biochem Pharmacol*, 81: 114135. Doi: 10.1016/j.bcp.2020.114135.

37. Alberto-Silva, C., Franzin, C. S., Gilio, J. M., Bonfim, R. S., & Querobino, S. M. (2020). Toxicological effects of bioactive peptide fractions obtained from Bothrops jararaca snake venom on the structure and function of mouse seminiferous epithelium. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 26: e20200007. doi: 10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0007

38. Albuquerque, P., & Mota, S. M. (2021). Snakebite-associated kidney injury. *Contrib Nephrol*, 199, 244-251. Doi: 10.1159/000517725.

39. Alekseeva, A. S., Tretiakova, D. S., Chernikov, V. P., Utkin, Yu. N., Molotovskiy, J. G., Vodovozova, E. L., ... Boldyrev, I. A. (2017). Heterodimeric V. nikolskii phospholipases A₂ induce aggregation of the lipid bilayer. *Toxicon*, 133, 169-179. Doi: 10.1016/j.toxicon.2017.05.015.

40. Almeida, J. R., Resende, L. M., Watanabe, R. K., Carregari, V. C., Huancahuire-Vega, S., da S Caldeira, C. A., ... Da Silva, S. L. (2017). Snake venom peptides and low mass proteins: Molecular tools and therapeutic agents. *Curr Med Chem*, 4 (30): 3254-3282. Doi: 10.2174/0929867323666161028155611.

41. Aloulou, A., Rahier, R., Arhab, Y., Noiriél, A., & Abousalham, A. (2018). Phospholipases: An overview. *Methods Mol Biol*, 1835, 69-105. Doi: 10.1007/978-1-4939-8672-9_3.

42. Al-Sadawi, M., Mohamadpour, M., Zhyvotovska, A., Ahmad, T., Schechter, J., Soliman, Y., ... McFarlane, S. I. (2019). Cerebrovascular accident and snake envenomation: A scoping study. *Int J Clin Res Trials*, 4: 133. Doi: 10.15344/2456-8007/2019/133.
43. Al-Sadoon, M. K., Diab, M. S., Bauomy, A. A., & Abdel Moneim, A. E. (2014). *Cerastes cerastes* gasperetti venom induced hematological alterations and oxidative stress in male mice. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 8, 693-702.
44. Amann, R. (1986). Detection of alterations in testicular and epididymal function in laboratory animals. *Environ Health Perspect*, 70, 149-158. doi: 10.1289/ehp.8670149
45. Arruda Macedo, J. K., Fox, J. W., & de Souza Castro, M. (2015). Disintegrins from snake venoms and their applications in cancer research and therapy. *Curr Protein Pept Sci*, 16 (6), 532-548. Doi: 10.2174/1389203716666150515125002.
46. Baliija, T., Leonardi, A., Brgles, M., Sviben, D., Kurtovic, T., Halassy, B., ... Krizaj, I. (2020). Biological activities and proteomic profile of the venom of *Vipera ursinii* ssp., a very rare Karst Viper from Croatia. *Toxins (Basel)*, 12 (3): 187. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins12030187>.
47. Bauwens, D. and Claus, K. (2019). Seasonal variation of mortality, detectability, and body condition in a population of the adder (*Vipera berus*). *Ecol. Evol.* 9 (10), 5821-5834
48. Berger, I., Werdermann, M., Bornstein, S. R., & Steenblock, C. (2019). The adrenal gland in stress – Adaptation on a cellular level. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 190, 198-206. Doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.04.006.
49. Bhat, S., Mukhopadhyay, P., Raychaudhury, A., Chowdhury, S., & Ghosh, S. (2019). Predictors of hypopituitarism due to vasculotoxic snake bite with acute kidney injury. *Pituitary*, 22 (6), 594-600. Doi: 10.1007/s11102-019-00990-8.
50. Bhattacharya, S., Krishnamurthy, A., Gopalakrishnan, M., Kalra, S., Kantroo, V., Aggarwal, S., ... Surana, V. (2020). Endocrine and metabolic

manifestations of snakebite envenoming. *Am J Trop Med Hyg*, 103 (4), 1388-1396. Doi: 10.4269/ajtmh.20-0161.

51. Bickler, P. E. (2020). Amplification of snake venom toxicity by endogenous signaling pathways. *Toxins (Basel)*, 12 (2): 68. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins12020068>.

52. Bio-Radlaboratoriesinc. (2015). *A guide to polyacrylamide gel electrophoresis and detection*. [online] Available at: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6040.pdf

53. Bocian, A., Urbanik, M., Hus, K., Łyskowski, A., Petrilla, V., Andrejčáková, Z., ... Legath, J. (2016). Proteome and peptidome of viper a berus berus venom. *Molecules*, 21 (10): 1398. Doi: 10.3390/molecules21101398.

54. Boeno, C. N., Paloschi, M. V., Lopes, J. A., Pires, W. L., Setúbal, S. D. S., Evangelista, J. R., ... Zuliani, J. P. (2019). Inflammasome activation induced by a snake venom Lys49-phospholipase A₂ homologue. *Toxins (Basel)*, 12 (1): 22. Doi: 10.3390/toxins12010022.

55. Boldrini-Franca, J., Cologna, C. T., Pucca, M. B., Bordon, K. C., Amorim, F. G., Anjolette, F. A., ... Arantes, E. C. (2016). Minor snake venom proteins: Structure, function and potential application. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 1861 (4), 824-838. Doi: 10.1016/j.bbagen.2016.12.022.

56. Bolon, I., Durso, A. M., Mesa, S. B., Ray, N., Alcoba, G., Chappuis, F., ... Ruiz de Castaneda, R. (2020). Identifying the snake: first scoping review on practices of communities and healthcare providers confronted with snakebite across the world. *PLoS One*, 15 (3): e0229989. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229989>.

57. Borges, R. J., Lemke, N., & Fontes, M. R. M. (2017). PLA₂-like proteins myotoxic mechanism: a dynamic model description. *Sci Rep*, 7 (1): 15514. Doi: 10.1038/s41598-017-15614-z.

58. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254.

59. Braga, J. R. M., Jorge, A. R. C., Marinho, A. D., Silveira, J. A. M., Noguera-Junior, F. A., ... Jorge, R. J. B. (2020). Renal effects of venoms of Mexican coral snakes *Micrurus browni* and *Micrurus laticollaris*. *Toxicon*, 181, 45-52. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.04.095.
60. Burin, S. M., Menaldo, D. L., Sampaio, S. V., Frantz, F. G., & Castro, F. A. (2018). An overview of the immune modulating effects of enzymatic toxins from snake venoms. *Int J Biol Macromol*, 109: 664-671. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.101.
61. Canas, C. A., Castro-Herrera, F., & Castano-Valencia, S. (2021). Clinical syndromes associated with Viperidae family snake envenomation in southwestern Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 115 (1), 51-56. Doi: 10.1093/trstmh/traa081.
62. Casewell, N. R., Jackson, T. N. W., Laustsen, A. H., & Sunagar, K. (2020). Causes and consequences of snake venom variation. *Trends Pharmacol Sci*, 41 (8), 570-581. Doi: 10.1016/j.tips.2020.05.006.
63. Castro, A. C., Escalante, T., Rucavado, A., & Gutiérrez, J. M. (2021). Basement membrane degradation and inflammation play a role in the pulmonary hemorrhage induced by a P-III snake venom metalloproteinase. *Toxicon*, 197, 12-23. Doi: 10.1016/j.toxicon.2021.04.012.
64. Cavalcante, W. L. G., Noronha-Matos, J. B., Timóteo, M. A., Fontes, M. R. M., Gallacci, M., & Correia-de-Sá, P. (2017). Neuromuscular paralysis by the basic phospholipase A₂ subunit of crotoxin from *Crotalus durissus terrificus* snake venom needs its acid chaperone to concurrently inhibit acetylcholine release and produce muscle blockage. *Toxicol Appl Pharmacol*, 334, 8-17. Doi: 10.1016/j.taap.2017.08.021.
65. Cerdo, R. C. A., Menaldo, D. L., Costa, T. R., Zoccal, K. F., Sartim, M. A., Santos-Filho, N. A., ... Sampaio, S. V. (2018). Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A₂ from *Bothrops jararaca* snake venom. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 24: 33. URL: <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0170-y>.

66. Cesar, P. H. S., Braga, M. A., Trento, M. V. C., Menaldo, D. L. & Marcussi, S. (2019). Snake venom disintegrins: An overview of their interaction with integrins. *Curr Drug Targets*, 20 (4), 465-477. Doi: 10.2174/13899450119666181022154737.
67. Chaisakul, J., Khow, O., Wiwatwarayos, K., Rusmili, M. R. A., Prasert, W., Othman, I., ... Chaiyabutr, N. (2021). A biochemical and pharmacological characterization of phospholipase A₂ and metalloproteinase fractions from eastern Russell's viper (*Daboia siamensis*) venom: two major components associated with acute kidney injury. *Toxins (Basel)*, 13 (8): 521. Doi: 10.3390/toxins13080521.
68. Chaiyabutr, N., Chanhom, L., Vasaruchapong, T., Laoungbua, P., Khow, O., Rungsipipat, A., ... Sitprija, V. (2020). The pathophysiological effects of Russell's viper (*Daboia siamensis*) venom and its fractions in the isolated perfused rabbit kidney model: A potential role for platelet activating factor. *Toxicon X*, 7: 100046. Doi: 10.1016/j.toxcx.2020.100046.
69. Chan, Y. S., Cheung, R. C. F., Xia, L., Wong, J. H., Ng, T. B., & Chan, W. Y. (2016). Snake venom toxins: toxicity and medicinal applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100 (14), 6165-6181. Doi: 10.1007/s00253-016-7610-9.
70. Charvat, R. A., Strobel, R. M., Pasternak, M. A., Klass, S. M., & Rheubert, J. L. (2018). Analysis of snake venom composition and antimicrobial activity. *Toxicon*, 150, 151-167. Doi: 10.1016/j.toxicon.2018.05.016.
71. Chen, X., Mo, J., Zhang, S., Li, X., Huang, T., Zhu, Q., ... Ge, R. S. (2019). 4-Bromodiphenyl ether causes adrenal gland dysfunction in rats during puberty. *Chem Res Toxicol*, 32(9), 1772-1779. Doi: 10.1021/acs.chemrestox.9b00123.
72. Chibber B.A., Deutsch D.G., & Mertz E.T. (1974) Affinity chromatography of plasminogen. *Methods Enzymol*, 34, 424-432.
73. Chippaux, J. P. (2017). Snakebite envenomation turns again into a neglected tropical disease! *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 23: 38. Doi: 1186/s40409-017-0127-6.

74. Claudet, I., Grouteau, E., Cordier, L., Franchitto, N., & Bréhin, C. (2016). Hyperglycemia is a risk factor for high-grade envenomations after European viper bites (*Vipera* spp.) in children. *Clin Toxicol (Phila)*, 54 (1), 34-39. Doi: 10.3109/15563650.2015.1113542.

75. Colby, H.D. (1988). Adrenal gland toxicity: chemically induced dysfunction. *International Journal of Toxicology*, 7 (1), 45-69. doi: 10.3109/10915818809078702.

76. Costal-Oliveira, F., Stransky, S., Guerra-Duarte, C., Naves de Souza, D. L., Vivas-Ruiz, D. E., Yarlequé, A., ... Braga, V. M. M. (2019). L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom triggers autophagy, apoptosis and necrosis in normal human keratinocytes. *Sci Rep*, 9 (1): 781. Doi: 10.1038/s41598-018-37435-4.

77. Cristina, R. T., Kocsis, R., Tulcan, C., Alexa, E., Boldura, O. M., Hulea, C. I., ... Muselin, F. (2020). Protein structure of the venom in nine species of snake: from bio-compounds to possible healing agents. *Braz J Med Biol Res*, 53 (1): e9001. Doi: 10.1590/1414-431X20199001.

78. Damm, M., Hempel, B. F., & Süßmuth, R. D. (2021). Old world vipers – a review about snake venom proteomics of viperinae and their variations. *Toxins (Basel)*, 13 (6): 427. Doi: 10.3390/toxins13060427.

79. De Oliveira, N. A., Cardoso, S. C., Barbosa, D. A., & da Fonseca, C. D. (2021). Acute kidney injury caused by venomous animals: inflammatory mechanisms. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 27: 20200189. Doi: 10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0189.

80. De Queiroz, M. R., de Sousa, B. B., da Cunha Pereira, D. F., Mamede, C. C. N., Matias, M. S., de Moraes, N. C. G., ... de Oliveira, F. (2017). The role of platelets in hemostasis and the effects of snake venom toxins on platelet function. *Toxicon*, 133, 33-47. Doi: 10.1016/j.toxicon.2017.04.013.

81. Di Nicola, M. R., Pontara, A., Kass, G. E. N., Kramer, N. I., Avella, I., Pampena, R., ... Paolino, G. (2021). Vipers of major clinical relevance in Europe:

Taxonomy, venom composition, toxicology and clinical management of human bites. *Toxicology*, 453: 152724. Doi: 10.1016/j.tox.2021.152724.

82. Dyachenko, I. A., Murashev, A. N., Andreeva, T. V., Tsetlin, V. I., & Utkin, Y. N. (2013). Analysis of nociceptive effects of neurotoxic phospholipase A₂ from *Vipera nikolskii* venom in mice. *J Venom Res*, 4, 1-4.

83. El-Helbawy, N. F., Radwan, D. A., Salem, M. F., & El-Sawaf, E. E. (2017). Effect of monosodium glutamate on body weight and the histological structure of the zona fasciculata of the adrenal cortex in young male albino rats. *Tanta Med J*, 45 (2), 104-113. Doi: 10.4103/tmj.tmj_11_17.

84. El-Tahawy, N. F. G., & Abozaid, S. M. M. (2019). The possible structural changes in the adrenal gland cortex after induction of hepatic ischemia-reperfusion injury in male albino rats: Light and electron microscopic study. *J Cell Physiol*. Doi: 10.1002/jcp.28196.

85. Ferras, C. R., Arrahman, A., Xie, C., Casewell, N. R., Lewis, R. J., Kool, J., ... Cardoso, F. C. (2019). Multifunctional toxins in snake venoms and therapeutic implications: from pain to hemorrhage and necrosis. *Front Ecol Evol*, 7. URL: <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00218>.

86. Ferreira, B. A., Deconte, S. R., de Moura, F. B. R., Tomiosso, T. C., Clissa, P. B., Andrade, S. P., ... Araujo, F. A. (2018). Inflammation, angiogenesis and fibrogenesis are differentially modulated by distinct domains of the snake venom metalloproteinase jararhagin. *Int J Biol Macromol*, 119, 1179-1187. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.051.

87. Ferreira, I. G., Pucca, M. B., Oliveira, I. S., Cerni, F. A., Jacob, B. C. D. S., & Arantes, E. C. (2021). Snake venom vascular endothelial growth factors (svVEGFs): Unravelling their molecular structure, functions, and research potential. *Cytokine Factor Rev*, 60, 133-143. Doi: 10.1016/j.cytogfr.2021.05.003.

88. Finol, H. J., Garcia-Lunardi, E., González, R., Girón, M. E., Uzcátegui, N. L., & Rodríguez-Acosta, A. (2020). Qualitative and quantitative study of the changes in the ultrastructure of mammalian adrenal cortex caused by the venezuelan

Tigra Mariposa (*Bothrops venezuelensis*) snake venom. *J Microsc Ultrastruct*, 8(3), 104-114. Doi: 10.4103/JMAU.JMAU_49_19.

89. Finol, H. J., García, E., González, R., Sanchez, E. E., & Rodríguez-Acosta, A. (2020). Qualitative and quantitative ultrastructural analysis of the mitochondria from adrenal gland cortex under the action of Viperidae family snake venoms. *Int J Morphol*, 38 (5), 1271-1280.

90. Frangieh, J., Rima, M., Fajloun, Z., Henrion, D., Sabatier, J. M., Legros, C., ... Mattei, C. (2021). Snake Venom Components: Tools and cures to target cardiovascular diseases. *Molecules*, 26 (8): 2223. Doi: 10.3390/molecules26082223.

91. George, T. K., Toms, A. G., Fenn, B. N., Kumar, V., Kavitha, R., Georgy, J. T., ... Zachariah, A. (2019). Renal outcomes among snake-envenomed patients with acute kidney injury in southern India. *Natl Med J India*, 32 (1), 5-8. Doi: 10.4103/0970-258X.272106.

92. Gilio, J. M., Portaro, F. C., Borella, M. I., Lameu, C., Camargo, A. C., & Alberto-Silva, C. (2013). A bradykinin-potentiating peptide (BPP-10c) from *Bothrops jararaca* induces changes in seminiferous tubules. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 19 (1): 28. doi: 10.1186/1678-9199-19-28.

93. Gjerstad, J. K., Lightman, S. L., & Spiga, F. (2018). Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *Stress*, 21 (5), 403-416. Doi: 10.1080/10253890.2018.1470238.

94. Gutiérrez, J. M., Calvete, J. J., Habib, A. G., Harrison, R. A., Williams, D. J., & Warrell, D. A. (2017). Snakebite envenoming. *Nat Rev Dis Primers*, 3: 17063. Doi: 10.1038/nrdp.2017.63.

95. Gutiérrez, J. M., Escalante, T., Rucavado, A., & Herrera, C. (2016). Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: A journey of discovery and understanding. *Toxins*, 8 (4), 93. Doi: 10.3390/toxins8040093.

96. Gutiérrez, J. M., Escalante, T., Rucavado, A., Herrera, C., & Fox, J. W. (2016). A comprehensive view of the structure and functional alterations of extracellular matrix by snake venom metalloproteinases (SVMPs): novel

perspectives on the pathophysiology of envenoming. *Toxins (Basel)*, 8 (10): 304. Doi: 10.3390/toxins8100304.

97. Gutiérrez, J. M., Rucavado, A., Escalante, T., Herrera, C., Fernández, J., Lomonte, B., ... Fox, J. W. (2018). Unresolved issues in the understanding of the pathogenesis of local tissue damage induced by snake venoms. *Toxicon*, 148, 123-131. Doi: 10.1016/j.toxicon.2018.04.016.

98. Hartmann, M. F., Reincke, M., Wudy, S. A., & Bernhardt, R. (2019). The human adrenal gland as a drug metabolizer: First in-vivo evidence for the conversion of steroidal drugs. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 194: 105438. Doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.105438.

99. Hermansen, M. N., Krug, A. H., Tjønnfjord, E., & Brabrand, M. (2019). Envenomation by the common European adder (*Vipera berus*): a case series of 219 patients. *Eur J Emerg Med*, 26 (5), 362-365. Doi: 10.1097/MEJ.0000000000000577.

100. Herzig, V., Cristofori-Armstrong, B., Israel, M. R., Nixon, S. A., Vetter, I., & King, G. F. (2020). Animal toxins – nature’s evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery. *Biochem Pharmacol*, 181: 114096. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114096>.

101. Hiu, J. J., & Yap, M. K. K. (2020). Cytotoxicity of snake venom enzymatic toxins: phospholipase A₂ and L-amino acid oxidase. *Biochem Soc Trans*, 48(2), 719-731. Doi: 10.1042/BST20200110.

102. Huang, Y. M., Chi, C. W., Wu, P. S., Tai, H. C., Chien, M. N., & Chen, Y. J. (2022). Adrenal gland irradiation causes fatigue accompanied by reactive changes in cortisol levels. *J Clin Med*, 11 (5): 1214. Doi: 10.3390/jcm11051214.

103. Ibrahim, I. Y., Abdel-Hakim, S. M., Nazmy, W. H., Saad, A. H., & Ali, F. F. (2015). Biological variations in adrenal gland response to immobilization and glucoprivation stressors in rats. *Endocr Regul*, 49 (4), 217-26. Doi: 10.4149/endo_2015_04_217.

104. Izidoro, L. F., Sobrinho, J. C., Mendes, M. M., Costa, T. R., Grabner, A. N., Rodrigues, V. M., ... Soares, A. M. (2014). Snake venom L-amino acid

oxidases: trends in pharmacology and biochemistry. *Biomed Res Int*, 2014: 196754. Doi: 10.1155/2014/196754.

105. Jayakrishnan, M. P., Geeta, M. G., Krishnakumar, P., Rajesh, T. V., & George, B. (2017). Snake bite mortality in children: beyond bite to needle time. *Arch Dis Child*, 102 (5), 445-449. Doi: 10.1136/archdischild-2016-311142.

106. Jenkins, T. P., Sánchez, A., Segura, Á., Vargas, M., Herrera, M., Stewart, T. K., ... Gutiérrez, J. M. (2017). An improved technique for the assessment of venom-induced haemorrhage in a murine model. *Toxicon*, 139, 87-93. Doi: 10.1016/j.toxicon.

107. Jeon, Y. J., Kim, J. W., Park, S., & Shin, D. W. (2019). Risk factor, monitoring, and treatment for snakebite induced coagulopathy: a multicenter retrospective study. *Acute Crit Care*, 34 (4), 269-275. Doi: 10.4266/acc.2019.00591.

108. John Binu, A., Kumar Mishra, A., Gunasekaran, K., & Iyadurai, R. (2019). Cardiovascular manifestations and patient outcomes following snake envenomation: a pilot study. *Trop Doct*, 49 (1), 10-13. Doi: 10.1177/0049475518814019.

109. Kalita, B., Patra, A., Das, A., & Mukherjee, A. K. (2018). Proteomic analysis and immune-profiling of Eastern India Russell's Viper (*Daboia russelii*) venom: correlation between RVV composition and clinical manifestations post RV bite. *J Proteome Res*, 17 (8), 2819-2833. Doi: 10.1021/acs.jproteome.8b00291.

110. Kanczkowski W., Sue M., Bornstein S. R. (2016). Adrenal Gland Microenvironment and Its Involvement in the Regulation of Stress-Induced Hormone Secretion during Sepsis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 7:156, doi: 10.3389/fendo.2016.00156.

111. Kanczkowski, W., Sue, M., & Bornstein, S. R. (2017). The adrenal gland microenvironment in health, disease and during regeneration. *Hormones (Athens)*, 16(3), 251-265. Doi: 10.14310/horm.2002.1744.

112. Kar, K., & Mukherjee, S. (2021). Endocrine dysfunctions may be sequelae of snake bite. *Asian Journal of Medical Sciences*, 12 (9), 150–155. Doi: 10.3126/ajms.v12i9.36990.

113. Karabuva, S., Lukšić, B., Brizić, I., Latinović, Z., Leonardi, A., & Križaj, I. (2017). Ammodytin L is the main cardiotoxic component of the *Vipera ammodytes ammodytes* venom. *Toxicon*, 139, 94-100. Doi: 10.1016/j.toxicon.2017.10.003.
114. Kariyanna, P. T., Jayarangaiah, A., Kamran, H., Schechter, J., Soroka, S., Amarnani, A., ... McFarlane, S. I. (2018). Myocardial infarction after snakebite envenomation: a scoping study. *Scifed J Cardiol*, 2 (3): 21.
115. Kebir-Chelghoum, H., & Laraba-Djebari, F. (2017). Cytotoxicity of *Cerastes cerastes* snake venom: involvement of imbalanced redox status. *Acta Trop*, 173, 116-124. Doi: 10.1016/j.actatropica.2017.06.010.
116. Kim, J. H., & Choi, M. H. (2020). Embryonic development and adult regeneration of the adrenal gland. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 35 (4), 765-773. Doi: 10.3803/EnM.2020.403.
117. Kini, R. M., & Koh, C. Y. (2016). Metalloproteases affecting blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation from snake venoms: definition and nomenclature of interaction sites. *Toxins (Basel)*, 8 (10): 284. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins8100284>.
118. Kou, J. Q., Han, R., Xu, Y. L., Ding, X. L., Wang, S. Z., Chen, C. X., ... Qin, Z. H. (2014). Differential effects of *Naja naja atra* venom on immune activity. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014: 287631. Doi: 10.1155/2014/287631.
119. Kovalchuk, S. I., Ziganshin, R. H., Starkov, V. G., Tsetlin, V. I. and Utkin, Y. N. (2016). Quantitative Proteomic Analysis of Venoms from Russian Vipers of Pelias Group: Phospholipases A2 are the Main Venom Components. *Toxins*, 8 (4), 105.
120. Kryukova, E. V., Potapenko, A. S., Andreeva, T. V., Ivanov, I. A., Ryabinin, V. V., Ziganshin, R. H., ... Utkin, Y. N. (2019). Dimeric disintegrins from the steppe viper *V. ursinii* venom. *Dokl Biochem Biophys*, 488 (1), 338-341. Doi: 10.1134/S1607672919050132.

121. Kuo, Y. J., Chung, C. H., & Huang, T. F. (2019). From discovery of snake venom disintegrins to a safer therapeutic antithrombotic agent. *Toxins (Basel)*, 11 (7): 372. Doi: 10.3390/toxins11070372.
122. Kurtović, T., Lang Balija, M., Brvar, M., Dobaja Borak, M., Mateljak Lukačević, S. and Halassy, B. (2021). Comparison of Preclinical Properties of Several Available Antivenoms in the Search for Effective Treatment of *Vipera ammodytes* and *Vipera berus* Envenoming. *Toxins*, 13 (3), p. 211.
123. Langgartner, D., Marks, J., Nguyen, T. C., & Reber, S. O. (2020). Changes in adrenal functioning induced by chronic psychosocial stress in male mice: A time course study. *Psychoneuroendocrinology*, 122: 104880. Doi: 10.1016/j.psyneuen.2020.104880.
124. Larréché, S., Chippaux, J. P., Chevillard, L., Mathé, S., Résière, D., Siguret, V., ... Mégarbane, B. (2021). Bleeding and thrombosis: Insights into pathophysiology of Bothrops venom-related hemostasis disorders. *Int J Mol Sci*, 22 (17): 9643. Doi: 10.3390/ijms22179643.
125. Latinović, Z., Leonardi, A., Koh, C. Y., Kini, R. M., Trampuš Bakija, A., Pungerčar, J., ... Križaj, I. (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: 10.3390/toxins12060358.
126. Latinovic, Z., Leonardi, A., Petan, T., Zlajpah, M., & Krizaj, I. (2017). Disintegrins from the venom of *Vipera ammodytes ammodytes* efficiently inhibit migration of breast cancer cells. *Acta Chim Slov*, 64 (30), 555-559. Doi: 10.17344/acsi.2016.2924.
127. Laustsen, A. H. (2016). Toxin synergism in snake venoms. *Toxin Reviews*, 35 (3-4), 165-170. Doi: 10.1080/15569543.2016.1220397.
128. Lazarovici, P., Marcinkiewicz, C., & Lelkes, P. I. (2019). From snake venom's disintegrins and C-type lectins to anti-platelet drugs. *Toxins (Basel)*, 11 (5): 303. Doi: 10.3390/toxins11050303.
129. Leonardi, A., Sajevic, T., Pungerčar, J., & Križaj, I. (2019). Comprehensive study of the proteome and transcriptome of the venom of the most

venomous european viper: Discovery of a new subclass of ancestral snake venom metalloproteinase precursor-derived proteins. *J Proteome Res*, 18 (5), 2287-2309. Doi: 10.1021/acs.jproteome.9b00120.

130. Lim, H. S., Yoon, K. N., Chung, J. H., Lee, Y. S., Lee, D. H., & Park, G. (2021). Chronic ultraviolet irradiation to the skin dysregulates adrenal medulla and dopamine metabolism in vivo. *Antioxidants (Basel)*, 10 (6): 920. Doi: 10.3390/antiox10060920.

131. Liu, F., Chen, Y., Xie, W., Liu, C., Zhu, Y., Tian, H., ... Chen, T. (2020). Obesity might persistently increase adrenal gland volume: a preliminary study. *Obes Surg*, 30 (9), 3503-3507. Doi: 10.1007/s11695-020-04593-2.

132. Lloyd S., Foster P.(1987). 1, 3-Dinitrobenzene: Toxicity and metabolism in rat testicular cell cultures. *Arch Toxicol Suppl*, 11, 281-284. doi: 10.1016/0887-2333(87)90035-x.

133. Long, C., Liu, M., Tian, H., Li, Y., Wu, F., Mwangi, J., ... Shen, C. (2020). Potential role of platelet-activating C-type lectin-like proteins in viper envenomation induced thrombotic microangiopathy symptom. *Toxins (Basel)*, 12 (12): 749. Doi: 10.3390/toxins12120749.

134. Longbottom, J., Shearer, F. M., Devine, M., Alcoba, G., Chappuis, F., Weiss, D. J., ... Pigott, D. M. (2018). Vulnerability of snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *Lancet*, 392 (10148), 673-684. Doi: 10.1016/S0140-6736(18)31224-8.

135. López-Dávila, A. J., Weber, N., Kraft, T., Matinmehr, F., Arias-Hidalgo, M., Fernández, J., ... Gutiérrez J. M. (2021). Cytotoxicity of snake venom Lys49 PLA₂-like myotoxin on rat cardiomyocytes ex vivo does not involve a direct action on the contractile apparatus. *Sci Rep*, 11 (1): 19452. Doi: 10.1038/s41598-021-98594-5.

136. Makarova, Y. V., Kryukova, E. V., Shelukhina, I. V., Lebedev, D. S., Andreeva, T. V., Ryazantsev, D. Y., ... Utkin, Y. N. (2018). The First recombinant viper three-finger toxins: Inhibition of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine

receptors. *Dokl Biochem Biophys*, 479 (1): 127-130. Doi: 10.1134/S1607672918020205.

137. Malina, T., Krecsák, L., Westerström, A., Szemán-Nagy, G., Gyémánt, G., M-Hamvas, M., ... Vasas, G. (2017). Individual variability of venom from the European adder (*Vipera berus berus*) from one locality in Eastern Hungary. *Toxicon*, 135, 59-70. Doi: 10.1016/j.toxicon.2017.06.004.

138. Mamede, C. C. N., de Sousa Simamoto, B. B., da Cunha Pereira, D. F., de Oliveira Costa, J., Ribeiro, M. S. M., & de Oliveira, F. (2020). Edema, hyperalgesia and myonecrosis induced by Brazilian bothropic venoms: overview of the last decade. *Toxicon*, 187, 10-18. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.08.016.

139. Marinho, A. D., Silveira, J. A. M., Chaves Filho, A. J. M., Jorge, A. R. C., Nogueira Júnior, F. A., Pereira, V. B. M., ... Monteiro, H. S. A. (2021). Bothrops pauloensis snake venom-derived Asp-49 and Lys-49 phospholipases A₂ mediates acute kidney injury by oxidative stress and release of inflammatory cytokines. *Toxicon*, 190, 31-38. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.12.004.

140. Martinez-Arguelles, D. B., & Papadopoulos, V. (2015). Mechanisms mediating environmental chemical-induced endocrine disruption in the adrenal gland. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 6: 29. Doi: 10.3389/fendo.2015.00029.

141. Matthew A. Wallig, Wanda M Haschek, Colin G. Rousseaux (2009) Fundamentals of Toxicologic Pathology. 2nd Edition - November 16, 2009 Hardback ISBN: 9780123704696, eBook ISBN: 9780080919324.

142. Medjerab, M., Abdelali, M., Khalkhal, A., Semiane, N., Hammadi, S., Mallek, A., ... Dahmani, Y. (2019). Adrenal cortex disorders in a new model of obesity, *Gerbillus gerbillus*, exposed to a high carbohydrate diet. *C R Biol*, 342 (1-2), 35-44. Doi: 10.1016/j.crv.2019.01.001.

143. Megale, Â. A. A., Magnoli, F. C., Kuniyoshi, A. K., Iwai, L. K., Tambourgi, D. V., Portaro, F. C. V., ... da Silva, W. D. (2018). Kn-Ba: a novel serine protease isolated from *Bitis arietans* snake venom with fibrinogenolytic and kinin-releasing activities. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 24: 38. Doi: 10.1186/s40409-018-0176-5.

144. Meroni S., Galardo M., Rindone G., Gorga A., Riera M., Cigorraga S. (2019). Molecular Mechanisms and Signaling Pathways Involved in Sertoli Cell Proliferation. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 224. doi: 10.3389/fendo.2019.00224.
145. Minghui, R., Malecela, M. N., Cooke, E., & Abela-Ridder, B. (2019). WHO's snakebite envenoming strategy for prevention and control. *Lancet Glob Health*, 7 (7): 837-838. Doi: 10.1016/S2214-109X(19)30225-6.
146. Modahl, C. M., Saviola, A. J., & Mackessy, S. P. (2021). Integration of transcriptomic and proteomic approaches for snake venom profiling. *Expert Rev Proteomics*, 18 (10), 827-834. Doi: 10.1080/14789450.2021.1995357.
147. Moura-da-Silva, A. M., Almeida, M. T., Portes-Junior, J. A., Nicolau, C. A., Gomes-Neto, F., & Valente, R. H. (2016). Processing of snake venom metalloproteinases: generation of toxin diversity and enzyme inactivation. *Toxins (Basel)*, 8 (6): 183. Doi: 10.3390/toxins8060183.
148. Munavar, A., Ali, S. A., Akrem, A., & Betzel, C. (2018). Snake venom peptides: tools of biodiscovery. *Toxins (Basel)*, 10 (11): 474. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins10110474>.
149. Naryzhnaya, N. V., Maslov, L. N., Vychuzhanova, E. A., Sementsov, A. S., Podoksyonov, Y. K., Portnichenko, A. G., ... Lishmanov, Y. B. (2015). Effect of hypoxic preconditioning on stress reaction in rats. *Bull Exp Biol Med*, 159 (4), 450-452. Doi: 10.1007/s10517-015-2988-4.
150. Nirthanan, S. (2020). Snake three-finger α -neurotoxins and nicotinic acetylcholine receptors: molecules, mechanisms and medicine. *Biochem Pharmacol*, 181: 114168. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114168>.
151. Niyazmetov T. S. (2023). Changes in the microscopic organisation of rat adrenal glands under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(3), 45-51. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-07)

152. Niyazmetov T. S. (2023). Peculiarities of the microscopic structure of rat testis under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(4), 35-40. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-05)
153. Niyazmetov T. S., Samborska, I. A., Butska, L. V., Kasianenko, D. M., Ocheretna O. L., Halahan, Y. V., & Fik, V. B. (2024). Analytical and quantitative assessment of the structural components of the adrenal glands of rats under the conditions of exposure to the venom of vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Reports of Morphology*, 30(1), 76-83. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-10)
154. Nourreddine, F. Z., Onssedik-Oumehdi, H., & Laraba-Djebari, F. (2020). Myotoxicity induced by *Cerastes cerastes* venom: Beneficial effect of heparin in skeletal muscle tissue regeneration. *Acta Trop*, 2020: 105274. Doi: 10.1016/j.actatropica.2019.105274.
155. Ojeda, P. G., Ramirez, D., Alzate-Morales, J., Caballero, J., Kaas, Q., & Gonzalez, W. (2017). Computational studies of snake venom toxins. *Toxins (Basel)*, 10 (1): 8. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins10010008>.
156. Okassova, A. K., Ilderbayev, O. Z., Nursafina, A. Z., Zharmakhanova, G. M., Rakhimova, B. B., Bayan, Y. T., ... Bayan, D. N. (2021). Evaluation of lipid peroxidation under immobilization stress in irradiated animals in experiment. *Open Access Maced J Med Sci*, 9 (A), 119-122. Doi: 10.3889/oamjms.2021.5781.
157. Olaoba, O. T., Karina Dos Santos, P., Selisstre-de-Araujo, H. S., & Ferreira de Souza, D. H. (2020). Snake venom metalloproteinases (SVMPs): a structure-function update. *Toxicon X*, 7: 100052. URL; <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100052>.
158. Oliveira, S. S., Alves, E. C., Santos, A. S., Nascimento, E. F., Pereira, J. P. T., Silva, I. M., ... Monteiro, W. M. (2020). Bleeding disorders in *Bothrops atrox* envenomations in the Brazilian Amazon: Participation of hemostatic factors and the impact of tissue factor. *Toxins (Basel)*, 12 (9): 554. Doi: 10.3390/toxins12090554.

159. Ongidi, I. H., Abdulsalaam, F. Y., Amuti, T. M., Kaisha, W. O., Awori, K. O., & Pulei, A. N. (2021). Microscopic features of the rat adrenal gland associated with chronic codeine phosphate administration. *Anat Cell Biol*, 54 (2), 241-248. Doi: 10.5115/acb.20.230.
160. Oyama, E., & Takahashi, H. (2017). Structures and functions of snake venom metalloproteinases (SVMP) from Protobothrops venom collected in Japan. *Molecules*, 22 (8): 1305. Doi: 10.3390/molecules22081305.
- 161.** Palamarchuk M, Niyazmetov T, Halenova T, Raksha N, Maievskiy O... & Ostapchenko L. (2022). Effect of Vipera berus berus and Vipera berus nikolskii venom on proteolytic balance in the tissue of the adrenal glands and testicles of rats. *Biomed Biotechnol Res J*, 6:543-9. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_287_22.
162. Paloschi, M. V., Pontes, A. S., Soares, A. M., & Zuliani, J. P. (2018). An update on potential molecular mechanisms underlying the actions of snake venom L-amino acid oxidases (LAAOs). *Curr Med Chem*, 25 (21), 2520-2530. Doi: 10.2174/0929867324666171109114125.
163. Paniagua, D., Vergara, I., Román, R., Romero, C., Benard-Valle, M., Calderón, A., ... Alagón, A. (2019). Antivenom effect on lymphatic absorption and pharmacokinetics of coral snake venom using a large animal model. *Clin Toxicol (Phila)*, 57 (8), 727-734. Doi: 10.1080/15563650.2018.1550199.
164. Panyim S., & Chalkley R. (1969). High resolution acrylamide gel electrophoresis of histones. *Arch. Biochem. Biophys*, 130 (1), 337–346.
165. Paolino, G., Di Nicola, M. R., Pontara, A., Didona, D., Moliterni, E., Mercuri, S. R., ... Pampena, R. (2020). Vipera snakebite in Europe: a systematic review of a neglected disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 34 (10), 2247-2260. Doi: 10.1111/jdv.16722.
166. Peterfi, O., Boda, F., Szabo, Z., Ferencz, E., & Baba, L. (2019). Hypotensive snake venom components – a mini-review. *Molecules*, 24 (15): 2778. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules24152778>.

167. Pinyachat, A. (2016). Comparative studies of structural and functional properties of snake venom metalloproteinases. *J Med Assoc Thai*, 1, 76-88.
168. Popovska-Perčinić, F., Manojlović-Stojanoski, M., Pendovski, L., Dinevska Kjovkarovska, S., Miova, B., Grubin, J., ... Ajdžanović, V. (2021). A moderate increase in ambient temperature influences the structure and hormonal secretion of adrenal glands in rats. *Cell J*, 22(4), 415-424. Doi: 10.22074/cellj.2021.6827.
169. Preciado, L. M., Pereañez, J. A., & Comer, J. (2019). Potential of matrix metalloproteinase inhibitors for the treatment of local tissue damage induced by a type P-I snake venom metalloproteinase. *Toxins (Basel)*, 12 (1): 8. Doi: 10.3390/toxins12010008.
170. Pucca, M. B., Knudsen, C., S Oliveira, I., Rimbault, C., A Cerni, F., Wen, F. H., ... Monteiro, W. M. (2020). Current knowledge on snake dry bites. *Toxins (Basel)*, 12 (11): 668. Doi: 10.3390/toxins12110668.
171. Qi, X., Zhang, Y., Liu, H., Zhang, J., Wang, W., & Lin, H. (2021). Cadmium exposure induces inflammation and necroptosis in porcine adrenal gland via activating NF- κ B/MAPK pathway. *J Inorg Biochem*, 223: 111516. Doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111516.
172. Rajagopala, S., Thabah, M. M., Ariga, K. K., & Gopalakrishnan, M. (2015). Acute hypopituitarism complicating Russell's viper envenomation: case series and systematic review. *QJM*, 108 (9), 719-28. Doi: 10.1093/qjmed/hcv011.
173. Razok, A., Shams, A., & Yousaf, Z. (2020). Cerastes cerastes snakebite complicated by coagulopathy and cardiotoxicity with electrocardiographic changes. *Toxicon*, 188: 1-4. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.10.003.
174. Reis, L. P. G., Botelho, A. F. M., Novais, C. R., Fiúza, A. T. L., Barreto, M. S. O., Ferreira, M. G., ... Melo, M. M. (2021). Cardiotoxic effects of Micrurus surinamensis (Cuvier, 1817) snake venom. *Cardiovasc Toxicol*, 21 (6), 462-471. Doi: 10.1007/s12012-021-09640-7.
175. Robbins V., & Summaria L. (1976). Plasminogen and plasmin. *Methods in Enzymology*, 45, 257 – 273

176. Roldán-Padrón, O., Castro-Guillén, J. L., García-Arredondo, J. A., Cruz-Pérez, M. S., Díaz-Peña, L. F., Saldaña, C., ... García-Gasca, T. (2019). Snake venom hemotoxic enzymes: biochemical comparison between *Crotalus* species from Central Mexico. *Molecules*, 24 (8): 1489. Doi: 10.3390/molecules24081489.
177. Rosol, T. J., Yarrington J. T., Latendresse J., Capen C. C. (2001). Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *J Toxicol Pathol.*, 29(1), 41-48. doi: 10.1080/019262301301418847.
178. Rucavado, A., Escalante, T., Camacho, E., Gutiérrez, J. M., & Fox, J. W. (2018). Systemic vascular leakage induced in mice by Russell's viper venom from Pakistan. *Sci Rep*, 8 (1): 16088. Doi: 10.1038/s41598-018-34363-1.
179. Russell, L., Lussell L., Ettlin R, Hikim A., Clegg E. et al (1990). The Sertoli cell in Histological and Histopathological Evaluation of the Testis. Cache River Press, Florida, 29-36. doi:10.1111/j.1365-2605.1993.tb01156.x
180. Sánchez, E. E., González, R., Lucena, S., García, S., Finol, H.J., Suntravat, M., ... Rodríguez-Acosta, A. (2018). Crotamine-like from Southern Pacific rattlesnake (*Crotalus oreganus helleri*) venom acts on human leukemia (K-562) cell lines and produces ultrastructural changes on mice adrenal gland. *Ultrastruct Pathol*, 42 (2), 116-123. Doi: 10.1080/01913123.2017.1422827.
181. Sanchez, E. F., Flores-Ortiz, R. J., Alvarenga, V. G., & Eble, J. A. (2017). Direct fibrinolytic snake venom metalloproteinases affecting hemostasis: structural, biochemical features and therapeutic potential. *Toxins (Basel)*, 9 (12): 392. Doi: 10.3390/toxins9120392.
182. Sanhajariya, S., Duffull, S. B., & Isbister, G. K. (2018). Pharmacokinetics of snake venom. *Toxins (Basel)*, 10 (2): 73. Doi: 10.3390/toxins10020073.
183. Santos-Filho, N. A., & Santos, C. T. (2017). Alpha-type phospholipase A₂ inhibitors from snake blood. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 23: 19. Doi: 10.1186/s40409-017-0110-2.

184. Saraiva, R. M., Caldas, A. S., Rodriguez, T. T., & Casais-e-Silva, L. L. (2015). Influence of thyroid states on the local effect induced by Bothrops envenoming. *Toxicon*, 102, 25-31. Doi: 10.1016/j.toxicon.2015.05.009.
185. Sarkar, S., Sinha, R., Chaudhury, A. R., Maduwage, K., Abeyagunwardena, A., Bose, N., ... McCulloch, M. (2020). Snake bite associated with acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*, 36 (12), 3829-3840. Doi: 10.1007/s00467-020-04911-x.
186. Sartim, M. A., Cezarette, G. N., Jacob-Ferreira, A. L., Frantz, F. G., Faccioli, L. H., & Sampaio, S. V. (2017). Disseminated intravascular coagulation caused by moojenactivase, a procoagulant snake venom metalloprotease. *Int J Biol Macromol*, 103, 1077-1086. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.146.
187. Sciani, J. M., & Pimenta, D. C. (2017). The modular nature of bradykinin-potentiating peptides isolated from snake venoms. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 23: 45. Doi: 10.1186/s40409-017-0134-7.
188. Seifert, S. A., Armitage, J. O., & Sanchez, E. E. (2022). Snake envenomation. *N Engl J Med*, 386 (1), 68-78. Doi: 10.1056/NEJMra2105228.
189. Senthilkumaran, S., Menezes, R. G., Hussain, S. A., Luis, S. A., & Thirumalaikolundusubramaniam, P. (2018). Russell's viper envenomation – associated Addisonian crisis. *Wilderness Environ Med*, 29 (4), 504-507. Doi: 10.1016/j.wem.2018.06.001.
190. Serrano, S. M. T., Zelanis, A., Kitano, E. S., & Tashima, A. K. (2018). Analysis of the snake venom peptidome. *Methods Mol Biol*, 1719, 349-358. Doi: 10.1007/978-1-4939-7537-2_23.
191. Shah, W., Khan, R., Shah, B., Khan, A., Dil, S., Liu, W., ... Jiang, X. (2021). The Molecular Mechanism of Sex Hormones on Sertoli Cell Development and Proliferation. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 12: 648141. doi: 10.3389/fendo.2021.648141.
192. Shalaby, A. M., Aboregela, A. M., Alabiad, M. A., & El Shaer, D. F. (2020). Tramadol promotes oxidative stress, fibrosis, apoptosis, ultrastructural and biochemical alterations in the adrenal cortex of adult male rat with possible

reversibility after withdrawal. *Microsc Microanal*, 26 (3), 509-523. Doi: 10.1017/S1431927620001397.

193. Sierra, C., Moreno, M. and García-Ruiz, J. C. (2022). The physiology of hemostasis. *Blood coagulation & fibrinolysis*, 33(1), S1-S2.

194. Silva, A., Kuruppu, S., Othman, I., Goode, R. J., Hodgson, W. C., & Isbister, G. K. (2017). Neurotoxicity in Sri Lankan Russell's viper (*Daboia russelii*) envenoming is primarily due to U₁-viperitoxin-Dr_{1a}, a pre-synaptic neurotoxin. *Neurotox Res*, 31 (1), 11-19. Doi: 10.1007/s12640-016-9650-4.

195. Silva, A., Maduwage, K., Sedgwick, M., Pilapitiya, S., Weerawansa, P., Dahanayaka, N. J., ... Isbister, G. K. (2016). Neuromuscular effects of common Krait (*Bungarus caeruleus*) envenoming in Sri Lanka. *PLoS Negl Trop Dis*, 10 (2): e0004368. Doi: 10.1371/journal.pntd.0004368.

196. Simoes-Silva, R., Alfonso, J., Gomez, A., Holanda, R. J., Sobrinho, J. C., Zaqueo, K. D., ... Soares, A. M. (2018). Snake venom, a natural library of new potential therapeutic molecules: challenges and current perspectives. *Curr Pharm Biotechnol*, 19 (4), 308-335. Doi: 10.2174/1389201019666180620111025.

197. Slagboom, J., Kool, J., Harrison, R. A., & Casewell, N. R. (2017). Haemotoxic snake venoms: their functional activity, impact on snakebite victims and pharmaceutical promise. *Br J Haematol*, 177 (6), 947-959. Doi: 10.1111/bjh.14591.

198. Soares, T. G., Santos, J. L. D., Alvarenga, V. G., Santos, J. S. C., Leclercq, S. Y., Faria, C. D., ... Borges, M. H. (2020). Biochemical and functional properties of a new l-amino acid oxidase (LAAO) from *Micrurus lemniscatus* snake venom. *Int J Biol Macromol*, 154, 1517-1527. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.033.

199. Spiga, F., & Lightman, S. L. (2015). Dynamics of adrenal glucocorticoid steroidogenesis in health and disease. *Mol Cell Endocrinol*, 408, 227-234. Doi: 10.1016/j.mce.2015.02.005.

200. Spolaore, B., Fernández, J., Lomonte, B., Massimino, M. L., & Tonello, F. (2019). Enzymatic labelling of snake venom phospholipase A₂ toxins. *Toxicon*, 170, 99-107. Doi: 10.1016/j.toxicon.2019.09.019.

201. Sun, Q. Y., Wang, C. E., Li, Y. N., & Bao, J. (2020). Inhibition of platelet aggregation and blood coagulation by a P-III class metalloproteinase purified from *Naja atra* venom. *Toxicon*, 187, 223-231. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.09.009.
202. Sunil, K. K., Joseph, J. K., Joseph, S., Varghese, A. M., & Jose, M. P. (2020). Cardiac involvement in vasculotoxic and neurotoxic snakebite – a not so uncommon complication. *J Assoc Physicians India*, 68 (11), 39-41.
203. Swierczynska, M. M., Mateska, I., Peitzsch, M., Bornstein, S. R., Chavakis, T., Eisenhofer, G., ... Eaton, S. (2015). Changes in morphology and function of adrenal cortex in mice fed a high-fat diet. *Int J Obes (Lond)*, 39 (2), 321-30. Doi: 10.1038/ijo.2014.102.
204. Takeda, S., Takeya, H., & Iwanaga, S. (2012). Snake venom metalloproteinases: structure, function and relevance to the mammalian ADAM / ADAMTS family proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1824 (1), 164-176. Doi: 10.1016/j.bbapap.2011.04.009.
205. Tan, K. K., Bay, B. H., & Gopalakrishnakone, P. (2018). L-amino acid oxidase from snake venom and its anticancer potential. *Toxicon*, 144, 7-13. Doi: 10.1016/j.toxicon.2018.01.015.
206. Tasoulis, T., & Isbister, G. K. (2017). A review and database of snake venom proteomes. *Toxins (Basel)*, 9 (9), 290. Doi: 10.3390/toxins9090290.
207. Thakur, R., & Mukherjee, A. (2017). Pathophysiological significance and therapeutic applications of snake venom protease inhibitors. *Toxicon*, 131, 37-47. Doi: 10.1016/j.toxicon.2017.03.011.
208. Timokhina, E. P., Yaglov, V. V., & Nazimova, S. V. (2021). Dichlorodiphenyltrichloroethane and the adrenal gland: from toxicity to endocrine disruption. *Toxics*, 9 (10): 243. Doi: 10.3390/toxics9100243.
209. Topal, F., Goren, H., Yucel, F., Sahinturk, V., & Aydar, Y. (2019). Effect of consuming high-fat diet on the morphological parameters of adrenal gland. *Bratisl Lek Listy*, 120 (8), 593-600. Doi: 10.4149/BLL_2019_097.

210. Tseilikman, V., Komelkova, M., Kondashevskaya, M. V., Manukhina, E., Fred Downey, H., Chereshev, V., ... Ullmann, E. (2021). A rat model of post-traumatic stress syndrome causes phenotype-associated morphological changes and hypofunction of the adrenal gland. *Int J Mol Sci*, 22: 13235. Doi: 10.3390/ijms222413235.
211. Ullah, A. (2020). Structure-function studies and mechanism of action of snake venom L-amino acid oxidases. *Front Pharmacol*, 11: 110. Doi: 10.3389/fphar.2020.00110.
212. Ullah, A., Masood, R., Ali, I., Ullah, K., Ali, H., Akbar, H., ... Betzel, C. (2018). Thrombin-like enzymes from snake venom: Structural characterization and mechanism of action. *Int J Biol Macromol*, 114, 788-811. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.164.
213. Variawa, S., Buitendag, J., Marais, R., Wood, D., & Oosthuizen, G. (2021). Prospective review of cytotoxic snakebite envenomation in a paediatric population. *Toxicon*, 190, 73-78. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.12.009.
214. Vergara, I., Castillo, E. Y., Romero-Piña, M. E., Torres-Viquez, I., Paniagua, D., Boyer, L. V., ... Medina, L. A. (2016). Biodistribution and lymphatic tracking of the main neurotoxin of *Micrurus fulvius* venom by molecular imaging. *Toxins (Basel)*, 8 (4): 85. Doi: 10.3390/toxins8040085.
215. Vikrant, S., & Parashar, A. (2017). Snake bite-induced acute kidney injury: report of a successful outcome during pregnancy. *Am J Trop Med Hyg*, 96 (4), 885-886. Doi: 10.4269/ajtmh.17-0007.
216. Waidyanatha, S., Silva, A., Siribaddana, S., & Isbister, G.K. (2019). Long-term effects of snake envenoming. *Toxins (Basel)*, 1 (4): 193. Doi: 10.3390/toxins11040193.
217. Walker, J. J., Spiga, F., Gupta, R., Zhao, Z., Lightman, S. L., & Terry, J. R. (2015). Rapid intra-adrenal feedback regulation of glucocorticoid synthesis. *J R Soc Interface*, 12 (102): 20140875. Doi: 10.1098/rsif.2014.0875.
218. Williams, H. F., Layfield, H. J., Vallance, T., Patel, K., Bicknell, A. B., Trim, S. A., ... Vaiyapuri, S. (2019). The urgent need to develop novel strategies for

the diagnosis and treatment of snakebites. *Toxins (Basel)*, 11 (6): 363. Doi: 10.3390/toxins11060363.

219. Williams, H. F., Mellows, B. A., Mitchell, R., Sfyri, P., Layfield, H. J., Salamah, M., ... Vaiyapuri, S. (2019). Mechanisms underpinning the permanent muscle damage induced by snake venom metalloprotease. *PLoS Negl Dis*, 13 (1): e0007041. Doi: 10.1371/journal.pntd.0007041.

220. Wiman B., & Wallen P. (1973). Activation of human plasminogen by an insoluble derivative of urokinase. Structural changes of plasminogen in the course of activation to plasmin and demonstration of a possible intermediate compound. *Eur. J. Biochem*, 36 (1), 25-31.

221. Wong, K. Y., Tan, K. Y., Tan, N. H., & Tan, C. H. (2021). A neurotoxic snake venom without phospholipase A₂: Proteomics and cross-neutralization of the venom from Senegalese Cobra, *Naja senegalensis* (Subgenus: *Uraeus*). *Toxins (Basel)*, 13 (1): 60. Doi: 10.3390/toxins13010060.

222. Xiao, H., Li, H., Zhang, D., Li, Y., Sun, S., & Huang, C. (2018). Inactivation of venom PLA₂ alleviates myonecrosis and facilitates muscle regeneration in envenomed mice: A time course observation. *Molecules*, 23 (8): 1911. Doi: 10.3390/molecules23081911.

223. Xiao, H., Pan, H., Liao, K., Yang, M., & Huang, C. (2017). Snake venom PLA₂, a promising target for broad-spectrum antivenom drug development. *Biomed Res Int*, 2017: 6592820. Doi: 10.1155/2017/6592820.

224. Yee, K. T., Tongsimma, S., Vasieva, O., Ngamphiw, C., Wilantho, A., Wilkinson, M. C., ... Rojnuckarin P. (2018). Analysis of snake venom metalloproteinases from Myanmar Russell's viper transcriptome. *Toxicon*, 146, 31-41. Doi: 10.1016/j.toxicon.2018.03.005.

225. Yerawar, C., Punde, D., Pandit, A., & Deokar, P. (2021). Russell's viper bite and the empty sella syndrome. *QJM*, 114 (4), 255-257. Doi: 10.1093/qjmed/hcaa197.

226. Yokonishi T., McKey J., Ide S., Capel B. (2020). Sertoli cell ablation and replacement of the spermatogonial niche in mouse. *Nat Commun*, 11(1), 40. doi: 10.1038/s41467-019-13879-8.

227. Zaki S., Abdelgawad F., El-Shaarawy E. A. A., Radwan R., Aboul-Hoda B. E. (2018). Stress-induced changes in the aged-rat adrenal cortex. Histological and histomorphometric study. *Folia Morphol (Warsz)*, 77(4), 629-641. doi: 10.5603/FM.a2018.0035.

228. Zaki, S. M., Abdelgawad, F. A., El-Shaarawy, E. A. A., Radwan, R. A. K., & Aboul-Hoda, B. E. (2018). Stress-induced changes in the aged-rat adrenal cortex. Histological and histomorphometric study. *Folia Morphol (Warsz)*, 77 (4), 629-641. Doi: 10.5603/FM.a2018.0035.

229. Zambelli, V. O., Picolo, G., Fernandes, C. A. H., Fontes, M. R. M., & Cury, Y. (2017). Secreted phospholipases A₂ from animal venoms in pain and analgesia. *Toxins (Basel)*, 9 (12): 406. Doi: 10.3390/toxins9120406.

230. Zanetti, G., Duregotti, E., Locatelli, C. A., Giampreti, A., Lonati, D., Rossetto, O., ... Pirazzini, M. (2018). Variability in venom composition of European viper subspecies limits the cross-effectiveness of antivenoms. *Sci Rep*, 8 (1): 9818. Doi: 10.1038/s41598-018-28135-0.

231. Zelanis, A., Menezes, M. C., Kitano, E. S., Liberato, T., Tashima, A. K., Pinto, A. F., ... Serrano, S. M. (2016). Proteomic identification of gender molecular markers in *Bothrops jararaca* venom. *J Proteomics*, 139, 26-37. Doi: 10.1016/j.jprot.2016.02.030.

232. 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: 10.3390/toxins12060356.

233. Zoulikha, M., Nacira, Z., Therese, G. S., & Yacine, S. (2021). Effect of two hypercaloric diets on the hormonal and metabolic profile of the adrenal gland. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 42 (4), 373-382. Doi: 10.1515/hmbci-2021-0007.

234. Zuliani, J. P., Soares, A. M., & Gutiérrez, J. M. (2020). Polymorphonuclear neutrophil leukocytes in snakebite envenoming. *Toxicon*, 187, 188-197. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.09.006.

ДОДАТКИ

Додаток А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Palamarchuk, M., Niyazmetov, T., Halenova, T., Raksha. N., Maievskiyi. O., ... & Ostapchenko, L. (2022). Effect of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* venom on proteolytic balance in the tissue of the adrenal glands and testicles of rats. *Biomed Biotechnol Res J*, 6:543-9. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_287_22

2. Niyazmetov, T. S. (2023). Changes in the microscopic organisation of rat adrenal glands under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(3), 45-51. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-07)

3. Niyazmetov, T. S. (2023). Peculiarities of the microscopic structure of rat testis under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(4), 35-40. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-05)

4. Niyazmetov, T. S., Samborska, I. A., Butska, L. V., Kasianenko, D. M., Ocheretna, O. L., Halahan, Y. V., & Fik, V. B. (2024). Analytical and quantitative assessment of the structural components of the adrenal glands of rats under the conditions of exposure to the venom of vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Reports of Morphology*, 30(1), 76-83. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-10)

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. Ніязметов, Т. С., Дзевульська, І. В., & Іскра, Ю. А. (2023). *Аналіз протеїнового профілю наднирників та сім'яників за умов впливу отрути гадюк виду *Vipera berus berus**. Збірник наукових праць: ХІХ Наукова

_конференція “Львівські хімічні читання – 2023”, Львів, 29–31 травня 2023 року – Львів: Видавництво від А до Я, 2023. – 254 с. (стор. 182). Львів.

6. Ніязметов, Т. С., & Семеник, В. М. (2024). *Зміни ядерно-цитоплазматичного індексу ендокриноцитів клубочкової та пучкової зон кори надниркових залоз за умов впливу отрути гадюк виду *vipera berus berus**. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Current challenges of science and education. Proceedings of the 5th International scientific and practical conference». MDPC Publishing. Berlin, Germany. 2024. Pp. 93-98.

7. Ніязметов, Т. С., & Семеник, В. М. (2024). *Зміни площі мікроциркуляторного русла у кірковій речовині наднирників за умов впливу отрути гадюк виду *vipera berus berus**. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Modern problems of science, education and society. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference». SPC “Sci-conf.com.ua”. Kyiv, Ukraine. 2024. Pp. 188-191.

Апробація результатів дисертації:

- XX Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення в науках про життя / Advancements in Life Sciences 2023» (м. Київ, 2023) – стендова доповідь.
- IX Міжнародна науково-практична конференція «Modern research in science and education». (м. Чикаго, США, 2024) – стендова доповідь.
- XI Міжнародна науково-практична конференція «Science and society: modern trends in a changing world. Proceedings of the 6th International scientific and practical conference». MDPC Publishing. Vienna, Austria. 2024. (м. Відень, Австрія 2024) – стендова доповідь.

Додаток Б1

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
д. м. н., _____ проф. Шульгай А.Г.
« _____ » _____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертації «Зміни цитоархітекτονіки та біохімічних показників надниркових залоз та сім'яників щурів за умов впливу отрути гадюк виду *Vipera berus*».
- 2. Автор:** Ніязметов Тімур Сапарбайович, асистент кафедри описової та клінічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
- 3. Пропозиція до впровадження:** Вперше встановлені гістологічні зміни надниркових залоз та сім'яників під впливом отрути *Vipera berus*: морфологічні зміни у клубочковій і пучковій зонах, крупних судинах мозкової речовини надниркових залоз (зниження ядерно-цитоплазматичного індексу, підвищення площі судин, розриви їх стінок і крововиливи в оточуючі паренхіму і строму); агрегація формених елементів у просвітах судин, значний рівень загибелі сперматогоній та набряку у цитоплазмі більш пізніх клітин сперматогенного ряду звивистих каналців сім'яників.
- 4. Актуальність дослідження:** Токсини змій і гадюк являють собою складну суміш білків, пептидів, низькомолекулярних речовин, солей у водному середовищі. Зазвичай отрута чинить нейротоксичну дію, локальну деструкцію м'яких тканин в місцях її інюкуляції або вазогемотоксичний вплив, при цьому розвиваються ендокринні і метаболічні розлади внаслідок дисфункції гіпофізу, ураження надниркових залоз, дисглікемії, електролітних порушень, ниркового тубулярного ацидозу. Саме сумарний ендокринний баланс, що формується у стані стресу, напруги, обумовлює характер і силу компенсаторно-приспосувальних і захисних процесів для адаптації і резистентності організму в цілому. Тому, всебічний аналіз

гістологічних, біохімічних, гістохімічних зрушень наднирників та сім'яників за умов впливу пошкоджуючих факторів, в тому числі токсинів отрути змій і гадюк, є актуальною задачею.

5. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

6. Джерела інформації:

Niyazmetov T. S. (2023). Changes in the microscopic organisation of rat adrenal glands under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(3), 45-51. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-07)

Niyazmetov T. S. (2023). Peculiarities of the microscopic structure of rat testis under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(4), 35-40. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-05)

Niyazmetov T. S., Samborska, I. A., Butska, L. V., Kasianenko, D. M., Ocheretna O. L., Halahan, Y. V., & Fik, V. B. (2024). Analytical and quantitative assessment of the structural components of the adrenal glands of rats under the conditions of exposure to the venom of vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Reports of Morphology*, 30(1), 76-83. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-10)

7. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

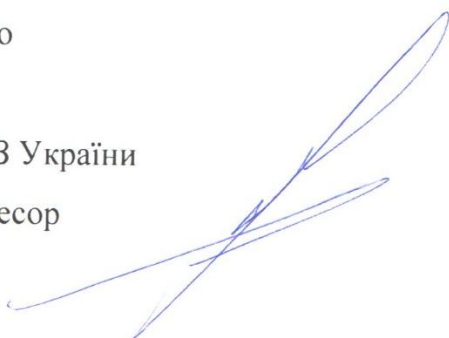
8. Форма впровадження: у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.

9. Термін впровадження: березень-квітень 2024 року.

10. Зауваження та пропозиції: немає.

11. Протокол засідання кафедри № 3 від 6 березня 2024 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор



Зоя НЕБЕСНА

«Затверджую»

Директор ННЦ

«Інститут біології та медицини»

Київського національного

університету імені Тараса Шевченка

Остапченко Л.І.



А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “Зміни цитоархітектоніки та біохімічних показників надниркових залоз та сім’яників щурів за умов впливу отрути гадюк виду *Vipera berus*”.

1. Автор: Ніязметов Тімур Сапарбайович, асистент кафедри описової та клінічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше встановлені біохімічні зміни надниркових залоз та сім’яників під впливом отрути *Vipera berus*: значний розвиток ендогеної інтоксикації; перерозподіл білкових фракцій; поява білкових молекул зі зміненими субстратними специфічностями; утворення великої кількості пептидних молекул з молекулярною масою нижче 5 кДа; патологічна активація протеолітичних процесів.

3. Актуальність дослідження: Токсини змій і гадюк являють собою складну суміш білків, пептидів, низькомолекулярних речовин, солей у водному середовищі. Зазвичай отрута чинить нейротоксичну дію, локальну деструкцію м’яких тканин в місцях її інюкуляції або вазогемотоксичний вплив, при цьому розвиваються ендокринні і метаболічні розлади внаслідок дисфункції гіпофізу, ураження надниркових залоз, дисглікемії, електролітних порушень, ниркового тубулярного ацидозу. Саме сумарний ендокринний баланс, що формується у стані стресу, напруги, обумовлює характер і силу компенсаторно-приспосувальних і захисних процесів для адаптації і резистентності організму в цілому. Тому, всебічний аналіз гістологічних, біохімічних, гістохімічних зрушень наднирників та сім’яників за умов впливу пошкоджуючих факторів, в тому числі токсинів отрути змій і гадюк, є актуальною задачею.

4. Установа-розробник: Національний медичний університет імені О. О. Богомольця.

5. Джерела інформації:

Palamarchuk M, Niyazmetov T, Halenova T, Raksha N, Maievskyi O... & Ostapchenko L. (2022). Effect of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* venom on proteolytic balance in the tissue of the adrenal glands and testicles of rats. *Biomed Biotechnol Res J*, 6:543-9. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_287_22.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Початок впровадження: Квітень 2024 р.

Протокол засідання кафедри № 3 від 22.03 2024р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри біохімії
ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
д.біол.н., професор



О. М. Савчук

Додаток БЗ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного університету
фізичного виховання і спорту
проф. Литвиненко Ю.В..

_____ 2024 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: “ Зміни цитоархітектоніки та біохімічних показників надниркових залоз та сім’яників щурів за умов впливу отрути гадюк виду *Vipera berus* ”.

1. Автор: Галаган Юлія Василівна, Ніязметов Тімур Сапарбайович, асистент кафедри описової та клінічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше встановлені гістологічні зміни надниркових залоз та сім’яників під впливом отрути *Vipera berus*: морфологічні зміни у клубочковій і пучковій зонах, крупних судинах мозкової речовини надниркових залоз (зниження ядерно-цитоплазматичного індексу, підвищення площі судин, розриви їх стінок і крововиливи в оточуючі паренхіму і строму); агрегація формених елементів у просвітах судин, значний рівень загибелі сперматогоній та набряку у цитоплазмі більш пізніх клітин сперматогенного ряду звивистих каналців сім’яників.

3. Актуальність дослідження: Токсини змій і гадюк являють собою складну суміш білків, пептидів, низькомолекулярних речовин, солей у водному середовищі. Зазвичай отрута чинить нейротоксичну дію, локальну деструкцію м’яких тканин в місцях її інюкуляції або вазогемотоксичний вплив, при цьому розвиваються ендокринні і метаболічні розлади внаслідок дисфункції гіпофізу, ураження надниркових залоз, дисглікемії, електролітних порушень, ниркового тубулярного ацидозу. Саме сумарний ендокринний баланс, що формується у стані стресу, напруги, обумовлює характер і силу компенсаторно-приспосувальних і захисних процесів для адаптації і резистентності організму в цілому. Тому, всебічний аналіз гістологічних, біохімічних, гістохімічних зрушень наднирників та сім’яників за умов впливу пошкоджуючих факторів, в тому числі токсинів отрути змій і гадюк, є актуальною задачею.

4. Установа-розробник: Національний університет фізичного виховання і спорту України.

5. Джерела інформації:

Niyazmetov T. S. (2023). Changes in the microscopic organisation of rat adrenal glands under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(3), 45-51. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(3\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(3)-07)

Niyazmetov T. S. (2023). Peculiarities of the microscopic structure of rat testis under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 29(4), 35-40. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-05](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-05)

Niyazmetov T. S., Samborska, I. A., Butska, L. V., Kasianenko, D. M., Ocheretna O. L., Halahan, Y. V., & Fik, V. B. (2024). Analytical and quantitative assessment of the structural components of the adrenal glands of rats under the conditions of exposure to the venom of vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Reports of Morphology*, 30(1), 76-83. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-10](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-10)

6. Ким і коли впроваджено: кафедра медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту.

Початок впровадження: квітень 2024 р.

Протокол засідання кафедри № 10 від 3.05. 2024р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін

Національного університету фізичного виховання і спорту,

д.мед.н., професор



Вікторія ПАСТУХОВА