

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЛАСАВУЦ ВЛАДИСЛАВ СЕРГІЙОВИЧ

УДК 61:612.2:615.9.616.2:616-008

ДИСЕРТАЦІЯ
МОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ПРИ
ВПЛИВІ 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

В.С. Ласавуц

Наукові керівники:

Яременко Лілія Михайлівна, доктор медичних наук, професор;

Маєвський Олександр Євгенійович, доктор медичних наук,
професор.

Київ – 2025

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного
підпису
ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису
Дата та час: 10:05:42 23.04.2025
Назва файлу з підписом: dlc_Ласавуц (2)_compressed.pdf
Розмір файлу з підписом: 5.3 MB
Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: dlc_Ласавуц (2)_compressed.pdf
Розмір файлу без підпису: 5.2 MB
Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних
підтверджено
Підписувач: Ласавуц Владислав Сергійович
П.І.Б.: Ласавуц Владислав Сергійович
Країна: Україна
РНОКПП: 344100099
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від надавача): 10:05:41
23.04.2025
Сертифікат виданий: КНЕДП ДПС
Серійний номер: 3FAA32833838E003040000004A8F3400AAAFAD500
Алгоритм підпису: ДСТУ 4146
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підписаний PDF-файл (PAdES)
Формат підпису: з повними даними для перевірки (PAdES-B-LT)
Сертифікат: Кваліфікований
Версія від: 2025.02.05 13:00

АНОТАЦІЯ

Ласавуц В. С. Гістологічні та біохімічні зміни в легенях щурів при впливі 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, 2025.

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання щодо визначення особливостей морфологічних та біохімічних параметрів структури легень щурів 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 гістології та ембріології "Вивчити тканинні реакції різних відділів нервової системи та внутрішніх органів на ураження різного генезу, та їх модуляцію. Педагогічні аспекти викладання гістології» (номер державної реєстрації 0123U101216).

У дослідженні використовували 50 білих безпородних щурів-самців з віварію Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Щури були розподілені на контрольну та дві експериментальні групи: одній групі внутрішньоочеревинно вводили отруту гадюки *Vipera berus berus* у призначеній дозі LD₅₀, а іншій групі — отруту *Vipera berus nikolskii* також у відповідній дозі LD₅₀.

Для морфологічного аналізу зрізи легень збирали у попередньо зважених тварин у всіх групах і досліджували за допомогою стандартних методик за допомогою світлового і електронного мікроскопа. Гомогенати легень і зразки крові піддослідних тварин аналізували за допомогою біохімічних та лабораторних досліджень.

У контрольній групі світлова мікроскопія легень показала, що легені ззовні вкриті вісцеральною плеврою, з щільно зрощеною стромальною сполучною тканиною. В прошарках пухкої сполучної тканини поблизу бронхів різного діаметру містяться кровоносні та лімфатичні судини. Бронхи сформовані трьома оболонками. Слизова включає епітеліальну, власну та м'язову пластинки. Епітеліальний шар слизової оболонки утворений одношаровим багаторядним війчастим епітелієм. Власна пластинка та підслизова основа сформована пухкою сполучною тканиною. М'язова пластинка найкраще виражена в малих бронхах, де формує об'ємний, товстий пласт. Фіброзно-хрящова оболонка представлена у великих бронхах пластинками та острівцями гіалінового хряща, у середніх бронхах – відсутня, що є видовою особливістю білих лабораторних щурів. Адвентиція – пухка сполучна тканина, що безпосередньо зростається з паренхімою легень. В адвентиційній та фіброзно-хрящовій оболонці бронхів визначається накопичення лімфоцитів у вигляді фолікулів. Респіраторний відділ легень утворений ацинусами, в склад яких входять респіраторні бронхіоли I, II, III порядків, альвеолярні ходи та альвеолярні мішечки. У всіх компонентах ацинуса містяться альвеоли, яких найменше у респіраторних бронхіолах, найбільше – в мішечках. Міжальвеолярні перегородки містять тонкі ретикулярні та еластичні волокна, клітини фібробластичного ряду та дуже добре розвинені судини гемомікроциркуляторного русла, зокрема гемокапіляри. Видовою особливістю респіраторного відділу білих щурів є відносно товста міжальвеолярна перегородка.

Гістологічні дослідження легень щурів при впливі отрути гадюки степової показали, що в легенях відбуваються значні деструктивні та запальні зміни усіх складових компонентів. Гемотоксини спровокували гемодинамічні розлади із перебудовою стінок судин, що призводить до набряку стінки, дезорганізації амофного компоненту та волокон, периваскулярної, інтерстиційної та перибронхіальної сполучної тканини. Токсичний вплив отрути провокує коагулопатії у вигляді гістологічно стазів, складжів

еритроцитів та формуванням тромбів. Розлади кровообігу супроводжуються накопиченням фібрину інтра- та екстраваскулярно, що підтверджує розвиток ДВЗ синдрому. Стінка альвеол потовщена внаслідок набряку та інфільтрації клітинами гісто- та лейкоцитарного ряду. Виявляються обширні дис- та ателектази, зони емфізематозно зміненої тканини легень. Альтерація стінок судин у вигляді діапедезів формених елементів в просвіті альвеол. Наявні запальні локальні конгломерати макрофагів, лімфоцитів, нейтрофілів переважно в локусах ателектазів. В ділянках крововиливів – макрофаги з грудками гемосидерину, що є результатом патологічного накопичення та розпаду гемоглобіну. У бронхах – пошкодження стінки з альтерацією усіх оболонок, в їх стінці об'ємні запальні інфільтрати з лімфоцитами та макрофагами. В частини бронхів – обструкція за рахунок бронхоспазму. В просвітах бронхів визначається серозно-слизовий вміст, із клітинним детритом.

Мікроскопічні дослідження легень тварин при дії отрути гадюки Нікольського встановили, що вплив отрути призводить до значних альтеративних, дегенеративних та запальних змін бронхів, судин, строми та паренхіми органу. Спостерігається ремоделювання стінки судин легень, її потовщення або локальне витончення, ерозивні і дексвамативні процеси ендотелію, набряк та розволокнення адвентиції, зростання площ запальних периваскулярних інфільтратів. Відмічається утворення набряків та перебудова волокнистих структур і аморфного компоненту перибронхіальної та периваскулярної сполучної тканини. Гіпергідратація сполучної тканини призводить до зростання вмісту сульфатованих глікозаміногліканів та глікопротеїнів. Наявне повнокрів'я не тільки вен, а і артерій, тромбоутворення, складжування еритроцитів. Стінка бронхів значно деформована, витончена, дистонічна. Адвентиція деформована, визначається розволокнення і набряк аморфного компоненту міжклітинної речовини. В перибронхіальній сполучній тканині спостерігається інтенсивна дифузна гістолейкоцитарна інфільтрація або локальні, об'ємні лімфоцитарні

конгломерати. Альтерація респіраторного відділу легень характеризується потовщенням стінок альвеол та формуванням значних площ дис- та ателектазів з інфільтрацією лімфоцитами та макрофагами. Спостерігаються локальні та обширні геморагії, зростають площі крововиливів у респіраторному відділі легень, перифокально визначається скупчення лейкоцитів, макрофагів. В сублевральних зонах респіраторний відділ легень змінений по емфізематозному типу, альвеоли перерозтягнуті, міжальвеолярні перегородки значно витончені, що не забезпечує нормальний перебіг газообміну. В периваскулярній, перибронхіальній та в зонах дис- та ателектазів визначається накопичення макрофагів-гемосидерофагів, як прояв крововиливів та розпаду гемоглобіну. Спостерігається скупчення пінистих макрофагів, що містяться в просвіті альвеол або в ділянках гістолейкоцитарних інфільтратів.

При електронно-мікроскопічному дослідженні легень щурів контрольної групи встановлено, що стінка альвеоли утворена тонкими прошарками пухкої стромальної сполучної тканини з добре розвиненими гемокапілярами мікроциркуляторного русла, та вистелена епітеліоцитами I і II типу, що лежать на базальній мембрані соматичного типу. Вільно в просвітах альвеол містяться альвеолярні макрофаги. Альвеолоцити I типу мають значні, тонкі цитоплазматичні вирости (вуалі), що містять чисельні мікропіноцитозні пухирці, вакуолі. Люменальна поверхня клітин формує мікроборсинки для забезпечення процесу трансендотеліального обміну. У заглибленнях поміж сусідніми альвеолами та поміж респіраторними альвеолоцитами містяться секреторні епітеліоцити. Основною характерною особливістю ультраструктури цих клітин є наявність в цитоплазмі осміофільних пластинчастих (ламелярних) та мультивезикулярних тілець, вміст яких необхідний для формування та заміщення в просвіті альвеоли сурфактанту. На апікальній поверхні клітин містяться чисельні мікроборсинки для забезпечення вивільнення вмісту секреторних тілець в альвеолярний простір. Наявні в альвеолах альвеолярні макрофаги, що переважно містяться вільно в

просвіті та прикріплюються до стінки альвеоли. Основною властивістю макрофагів є наявність в цитоплазмі електроннощільних первинних лізосом і вторинних фагосом. Плазмолема клітин утворює вип'ячування і інвагінації для сприяння процесу фагоцитозу.

Гістологічні дослідження легень щурів при дії отрути гадюки степової показали, що цитоплазматичні, периферичні ділянки альвеолоцитів І типу та ендотеліоцитів деструктуризовані, цілісність люменальних їх мембран порушена. Гемокапіляри переважно з розширеним, повнокровним просвітом із стазами та складжами еритроцитів, часто виявлялися активовані нейтрофільні гранулоцити. Цілісність міжклітинних контактів в багатьох полях зору часто порушена. Базальна мембрана гемокапілярів або спільна альвеолокапілярна базальна мембрана набрякла, розпушена або гомогенна, підвищеної осміофілії. Ультраструктура альвеолоцитів І типу значно порушена. Стінка альвеоли потовщена переважно за рахунок набряку та активації клітин фібробластичного ряду. Ультраструктурний стан альвеолоцитів ІІ типу також значно змінений, та характеризувався порушенням цитоплазми та ядра клітин. Більшість мембранних органел синтетичного апарату вакуолізовані, з пошкодженням їх мембран. Виявлялися деформовані пластинчасті тільця, осміофільний вміст яких був фрагментований або гомогенний. Мультивезикулярні тільця нечисельні, невеликі відносно підвищеної осміофільності. Визначалися альвеолоцити ІІ типу, які містили в цитоплазмі поряд із сформованими секреторними ламелярними тільцями незрілі або спустошені вакуолізовані та великі краплі нейтрального жиру, як прояв забезпечення відновлення процесу секреції пластинчастих тілець. Також, про напруження секреторного процесу ламелярних тілець свідчить їх злиття у великі вакуолі із осміофільним вмістом всередині. В просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів як прояв захисної реакції. Клітини формують об'ємні цитоплазматичні утвори для забезпечення гетерофагоцитозу. Проте також

наявні в просвіті альвеол альтеративно змінені і молоді макрофаги для забезпечення місцевих захисних реакцій в респіраторному відділі легень.

Гістологічні дослідження легень на тлі дії отрути гадюки Нікольського встановили подібну тенденцію деструктивно-дегенеративних змін компонентів альвеол, як в попередній дослідній групі, проте ступінь їх альтерації був більш значним. Первинно токсичний вплив отрути гадюки чинив пряме пошкодження стінки гемокапілярів із сладжами, стазами, тромбами та геморагіями, як прояв ДВЗ-синдрому. Значних змін ультраструктури зазнавала альвеолокапілярна базальна мембрана, яка на значних площах була гомогенна, набрякла, розпушена. Пошкодження стінки альвеол, накопичення в їх просвіті клітинного детриту, фібрину та формених елементів крові спричинило запальну реакцію з нагромадженням в просвіті альвеол нейтрофільних гранулоцитів. Респіраторні епітеліюцити зонально втрачали цілісність плазмолем. Субмікроскопічна організація секреторних альвеолоцитів хакаризувалася зменшенням числа секреторних, ламелярних тілець в цитоплазмі, поодинокі визначалися щільні мультивезикулярні тільця. Наявні в інтерстиції плазмоцити, також в альвеолах визначалася значна кількість альвеолярних макрофагів, що були рідко фіксовані до стінки, переважно вільно розміщені в просвіті альвеол. Серед генерації клітин переважали деструктивно змінені та активно фагоцитуючі.

Результати якісного та кількісного аналізу загального протеїну, дослідження протеолітичної активності та вмісту молекул середньої маси свідчать про активацію деструктивних процесів, які запускає отрута гадюк. Спостерігається значне зниження рівня загального протеїну, утворюються протеїни середньої та низької молекулярної маси, яких взагалі немає в контрольній групі. Відносний вміст молекул середньої маси при дії отрути *Vipera berus berus* і *Vipera berus Nikolskii* значно зростає. У довгостроковій перспективі такий колапс протеостазу може призвести до ускладнень дихальної системи. Крім того, результати показали, що порівняно з *V. berus berus*, отрута *V. berus Nikolskii* має набагато більш шкідливу дію на легені

щурів. Це слід враховувати клініцистам, які працюють із випадками зміїних укусів. Загалом, результати цього дослідження можуть бути застосовані для встановлення більш точного планування лікувальних заходів зміїних укусів, а також у стратегіях розробки протиотрути.

Таким чином, проведенні дослідження легень тварин контрольної групи показали, що дані органи мають типову будову, яка характерна для даного виду тварин.

За умов впливу отрути гадюки степової мікроскопічно спостерігаються значні зміни судинного, стромального та перенхіматозного компонентів, відбувається перебудова судинного русла, з формуванням коагулопатій, тромбозів; підвищення проникності стінки судин супроводжується розвитком ДВЗ-синдрому та крововиливами; в стінці бронхів та респіраторному відділі легень виявляються запальні явища, скупчення пінистих макрофагів. Ці явища відбуваються на тлі ремоделювання компонентів респіраторного відділу легень: достовірне зростання середнього значення площі судин, бронхів та лімфоїдної тканини з формуванням значних площ дис- та ателектазів, зон емфіземи, що призводить до зменшення середнього значення площі легень з незміненою гістоструктурою.

За умов впливу отрути гадюки Нікольського встановлено глибокі деструктивно-дегенеративні зміни судин, бронхів та респіраторного відділу з розвитком ДВЗ-синдрому значних площ запалення, різними формами коагулопатій та дифузними і локальними крововиливами, що викликає збільшення середнього показника площі судин, середніх значень площі бронхів і лімфоїдної тканини, а також зниження середнього значення площі респіраторного відділу. Значення відносних площ дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої тканини легень достовірно збільшувалися.

Потенційний вплив зміїних отрут *Vipera berus* на стан протеїнового метаболізму тканини легень викликає значне зниження рівня загального протеїну, утворюються протеїни середньої та низької молекулярної маси, яких взагалі не існує в нормі. На фоні дії отрути *Vipera berus* Nikolskii виникає

розщеплення відносно більших кількостей високомолекулярних ферментів з одночасним утворенням більшої кількості ферментативних фракцій з меншою молекулярною масою. Відносний вміст молекул середньої маси значно зростає.

Ключові слова: легені, отрута змій, металопротеїнази, протеїновий профіль, ядерно-цитоплазматичний індекс, некроз, крововилив.

ANNOTATION

Lasavutz V. S. Histological and biochemical changes in the lungs of rats exposed to the venom of the *Vipera berus* species. – Qualification of scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the Doctor of Philosophy degree in knowledge 22 “Health Care” in the speciality 222 “Medicine”. – Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2025.

The dissertation presents a theoretical generalisation and a new solution to the scientific and practical task of determining the features of the morphological and biochemical parameters of the structure of the lungs of rats exposed to the venom of the *Vipera berus* species.

The dissertation research was carried out in accordance with the scientific research plans of the National Medical University named after O. O. Bogomolets and is a fragment of the scientific research work of the Department of Histology and Embryology "To study the tissue reactions of different parts of the nervous system and internal organs to lesions of various genesis, and their modulation. Pedagogical aspects of teaching histology" (state registration number 0123U101216).

The experiment was conducted on 50 white outbred male rats obtained from the vivarium of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. During the study, experimental animals were divided into a control group and two experimental groups: rats that were intraperitoneally injected with the venom of the viper *Vipera berus berus* at the appropriate LD₅₀ dose and rats that were intraperitoneally injected with the venom of the viper *Vipera berus nikolskii* at the appropriate LD₅₀ dose.

The choice of dose was due to previous studies in which the toxic doses of the venoms of the common vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* were established.

For histological examination, lung slices were taken from previously weighed animals of all groups and studied using light and electron microscopy methods. Lung homogenates, as well as blood samples of experimental rats, were used for biochemical and laboratory studies.

During light microscopy of the lungs of rats in the control group, it was observed that the lungs are externally covered by visceral pleura, underpinned by densely fused stromal connective tissue. Blood and lymphatic vessels are situated within the layers of loose connective tissue of varying diameters adjacent to the bronchi. The bronchi are composed of three membranes. The mucous membrane includes the epithelial layer, lamina propria, and muscularis lamina. A single-layered, multi-row ciliated epithelium forms the epithelial layer of the mucous membrane. The lamina propria and submucosal base are constituted of loose connective tissue. The muscularis lamina is most prominent in the small bronchi, forming a substantial, thick layer. In the large bronchi, the fibrocartilaginous membrane comprises laminae and islands of hyaline cartilage, while it is absent in the medium bronchi, a distinctive feature of white laboratory rats. Adventitia is a loose connective tissue that directly merges with the lung parenchyma. In the adventitia and fibrocartilaginous membranes of the bronchi, an accumulation of lymphocytes in the form of follicles can be identified. The respiratory section of the lungs consists of acini, which include respiratory bronchioles of the I, II, and III orders, alveolar ducts, and alveolar sacs. All components of the acinus contain alveoli, with the smallest in the respiratory bronchioles and the largest in the sacs. The interalveolar septa comprise thin reticular and elastic fibres, fibroblast cells, and well-developed vessels of the hemomicrocirculatory bed, particularly hemocapillaries. A notable characteristic of the respiratory section of white rats is the relatively thick interalveolar septum.

Histological studies of rats bitten by a steppe viper indicated that significant destructive and inflammatory changes occur in the lungs of all constituent components. Haemotoxins provoke haemodynamic disorders leading to the restructuring of the vascular walls, resulting in oedema of the wall, disorganisation of the amorphous component and fibres, as well as perivascular, interstitial, and peribronchial connective tissue. The toxic effects of the venom induce coagulopathy, which manifests as histological stasis, erythrocyte sludge, and the formation of blood clots. Circulatory disorders are characterised by the accumulation of fibrin both intra- and extravascularly, confirming the development of DIC syndrome. The alveolar wall thickens due to oedema and infiltration by cells from the histo- and leukocyte series. Extensive dis- and atelectasis, along with emphysematously altered lung tissue zones, are observed. Alterations in the vascular walls are noted, indicating diapedesis of shaped elements into the lumen of the alveoli. Inflammatory local conglomerates of macrophages, lymphocytes, and neutrophils are primarily found in the loci of atelectasis. In the areas of haemorrhages, macrophages containing hemosiderin lumps arise from the pathological accumulation and degradation of haemoglobin. In the bronchi, the wall exhibits damage with alterations to all membranes; within these walls, there are substantial inflammatory infiltrates of lymphocytes and macrophages. In part of the bronchi, obstruction occurs due to bronchospasm. Serous-mucous content mixed with cellular detritus is evident in the lumens of the bronchi.

Microscopic studies of the lungs of animals bitten by Nikolsky's viper have established that the effect of the poison leads to significant alterations, degenerative, and inflammatory changes in the bronchi, vessels, stroma, and parenchyma of the organ. Remodelling of the walls of the pulmonary vessels, their thickening or local thinning, erosive and desquamative processes of the endothelium, oedema, and defibrosis of the adventitia, along with an increase in the area of inflammatory perivascular infiltrates, are observed. The formation of oedema, restructuring of fibrous structures, and the amorphous component of the peribronchial and perivascular connective tissue are noted. Hyperhydration of the connective tissue

leads to an increase in the content of sulfated glycosaminoglycans and glycoproteins. There is complete blood supply not only to the veins but also to the arteries, accompanied by thrombosis and erythrocyte slugging. The bronchial wall is significantly deformed, thinned, and dystonic. The adventitia is deformed, with defibrosis and oedema of the amorphous component of the intercellular substance detected. The peribronchial connective tissue exhibits intense diffuse histoleukocyte infiltration or local, voluminous lymphocytic conglomerates. Alterations of the respiratory part of the lungs are characterised by thickening of the walls of the alveoli and the formation of significant areas of dis- and atelectasis with infiltration by lymphocytes and macrophages. Local and extensive haemorrhages are observed, with increasing areas of haemorrhage in the respiratory part of the lungs and perifocal accumulation of leukocytes and macrophages identified. In the subpleural zones, the respiratory part of the lungs is altered in an emphysematous manner; the alveoli are overstretched, and the interalveolar septa are significantly thinned, which does not facilitate the normal course of gas exchange. In the perivascular, peribronchial, and atelectasis zones, the accumulation of macrophages-hemosiderophages is identified as a manifestation of hemovilli and haemoglobin breakdown. There is an accumulation of foamy macrophages in the lumen of the alveoli or areas of histoleukocyte infiltrates.

During electron microscopic examination of the lungs of the control group rats, it was observed that the wall of the alveoli is composed of thin layers of loose stromal connective tissue with well-developed hemocapillaries from the microcirculatory bed and is lined with epithelial cells of types I and II, resting on the somatic basement membrane. Alveolar macrophages are freely present within the lumens of the alveoli. Type I alveolocytes feature significant, thin cytoplasmic extensions (veils) containing numerous micropinocytotic vesicles and vacuoles. The luminal surface of these cells is adorned with microvilli to facilitate the process of transendothelial exchange. Secretory epithelial cells are in the recesses between neighbouring alveoli and respiratory alveolocytes. A key characteristic of the ultrastructure of these cells is the presence of osmiophilic lamellar and

multivesicular bodies in the cytoplasm, which are essential for the formation and replacement of surfactant in the alveolar lumen. The apical surface of the cells showcases numerous microvilli to aid in the release of the contents of the secretory bodies into the alveolar space. Alveolar macrophages are found within the alveoli, primarily freely suspended in the lumen and attached to the alveolar wall. A notable feature of macrophages is the presence of electron-dense primary lysosomes and secondary phagosomes in the cytoplasm. The plasmalemma of these cells forms protrusions and invaginations to assist in the process of phagocytosis.

Electron microscopic studies of rat lungs exposed to the venom of the steppe viper showed that the cytoplasmic peripheral areas of type I alveolocytes and endothelial cells are disrupted, compromising the integrity of their luminal membranes. The hemocapillaries mainly exhibit dilated, fully blood-filled lumens with stasis and erythrocyte sludge, and activated neutrophilic granulocytes are frequently detected. The integrity of intercellular contacts in many fields of view is often compromised. The basement membrane of hemocapillaries or the typical alveolocapillary basement membrane appears edematous, loose, or homogeneous, displaying increased osmiophilia. The ultrastructure of type I alveolocytes is significantly altered. The alveolar wall is primarily thickened due to oedema and the activation of fibroblastic cells. The ultrastructural state of type II alveolocytes has also changed considerably, characterised by disruption of the cytoplasm and cell nucleus. Most of the membrane-bound organelles of the synthetic apparatus are vacuolated, showing damage to their membranes. Deformed lamellar bodies have been observed, with fragmented or homogeneous osmiophilic content. Multivesicular bodies are few and small, failing to increase osmiophilicity. Type II alveolocytes were identified, containing immature or emptied vacuoles filled with large droplets of neutral fat in the cytoplasm alongside formed secretory lamellar bodies to facilitate the restoration of lamellar body secretion processes. The tension in the secretory process of lamellar bodies is evidenced by their fusion into large vacuoles with osmiophilic content inside. A significant number of alveolar macrophages are detected in the lumen of the alveoli, indicating a protective

response. These cells form voluminous cytoplasmic formations to facilitate heterophagocytosis. However, young macrophages in the alveolar lumen have also undergone alterations to provide local protective responses in the respiratory portion of the lungs.

Electron microscopic studies of the lungs, set against the backdrop of Nikolsky's viper venom, have revealed a similar trend of destructive-degenerative changes in the components of the alveoli as observed in the previous experimental group. However, the degree of alteration was more pronounced. The primary toxic effect of the viper venom inflicted direct damage to the hemocapillary wall, leading to sludge, stasis, thrombi, and haemorrhages as manifestations of DIC syndrome. The alveolar-capillary basement membrane exhibited significant changes in its ultrastructure, becoming homogeneous, edematous, and loose in considerable areas. Damage to the alveolar wall and the accumulation of cellular detritus, fibrin, and blood-formed elements within the lumen provoked an inflammatory reaction characterised by an increase in neutrophilic granulocytes present in the alveolar lumen. Respiratory epithelial cells lost the integrity of the plasmalemma in a zonal manner. The submicroscopic organisation of secretory alveolocytes was marked by a reduction of secretory lamellar bodies in the cytoplasm, while dense multivesicular bodies were observed infrequently. Plasma cells were found in the interstitium, and numerous alveolar macrophages were noted within the alveoli, which were rarely adhered to the walls and mainly located freely within the alveolar lumen. Among the cellular population, destructively altered and actively phagocytic cells predominated.

The results of qualitative and quantitative analyses of total protein, proteolytic activity, and the content of medium-weight molecules indicate the activation of destructive processes triggered by viper venom. A significant decrease in the total protein level is observed; medium and low molecular weight proteins are formed, which are not present in the control group. The relative content of medium-weight molecules increases significantly under the action of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* venom. In the long term, such a proteostasis collapse can lead to

respiratory system complications. Furthermore, the results demonstrated that compared to *V. berus berus*, *V. berus nikolskii* venom has a considerably more harmful effect on the lungs of rats. This should be taken into account by clinicians dealing with snakebite cases. Overall, the findings of this study can be utilised to establish a more accurate plan for treating snakebites and formulating strategies for developing antivenom.

Thus, the study of the lungs of the control group animals showed that these organs have a typical structure, which is characteristic of this species of animals.

Under the influence of the venom of the steppe viper, microscopically significant changes in the vascular, stromal, and parenchymal components are observed; the vascular bed is restructured, leading to coagulopathy and thrombosis. The development of DIC syndrome and haemorrhages accompanies increased permeability of the vascular wall. At the same time, inflammatory phenomena and the accumulation of foamy macrophages are detected in the walls of the bronchi and the respiratory part of the lungs. These phenomena occur against a backdrop of remodelling within the components of the respiratory part of the lungs: a notable increase in the average area of vessels, bronchi, and lymphoid tissue leads to substantial regions of dys- and atelectasis, as well as zones of emphysema, ultimately resulting in a decrease in the average area of the lungs despite unchanged histostructure.

Under the influence of the toxin from the Nikolsky viper, profound destructive-degenerative changes in the vessels, bronchi, and respiratory tract were observed, accompanied by the development of disseminated intravascular coagulation syndrome affecting significant areas of inflammation, various forms of coagulopathy, and both diffuse and local haemorrhages. This leads to an increase in the average area of vessels, the average values of the bronchi and lymphoid tissue, and a decrease in the average value of the area of the respiratory tract. The values of the relative areas of dis- and atelectasis and emphysematous lung tissue significantly rose. The potential effect of *Vipera berus* snake venom on protein metabolism in lung tissue results in a considerable decrease in the total protein level; proteins of

medium and low molecular weight are formed, which do not exist under normal conditions. Against the backdrop of the action of the venom of *Vipera berus nikolskii*, a cleavage of relatively large amounts of high-molecular enzymes occurs, with the simultaneous formation of a more significant number of enzymatic fractions of lower molecular weight. The relative content of medium-weight molecules increases significantly.

Keywords: lungs, snake venom, metalloproteinases, protein profile, nuclear-cytoplasmic index, necrosis, haemorrhage.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Serhii Shchypanskyi, Oleksandr Maievskyi, Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko, Nataliia Raksha, Tetiana Halenova...& Olexii Savchuk (2024). Proteostasis collapse in rat's lung tissue as one of the effects of European adder (*Vipera berus* subsp. *berus* and *Vipera berus* subsp. *nikolskii*) envenomation. *Curr Issues Pharm Med Sci.*, 37, 4, 195-199. <https://doi.org/10.2478/cipms-2024-0032>
2. Lasavutz, V. S., Yaremenko, L. M., Butska, L. V., Lavrynenko, V. Y., & Zhehulovych, Z. Y. (2024). Morphological state of lungs of rats under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 30(2), 69-75. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(2)-09)
3. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to *Vipera berus nikolskii* venom. *Morphologia*, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>
4. Lasavutz VS. (2024). Analysis of morphometric parameters of lung tissue under conditions of exposure to the venom of the vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Morphologia*, 18(4), 61-65. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.61-65>
5. Lasavutz V. S. (2025). Features of ultrastructural changes in rat lungs under the conditions of the action of *vipera berus* viper venom. *«Перспективи та*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Ласавуц В.С., Сокурєнко Л.М. & Маєвський Є.О. (2022). *Токсичний ефект отрут гадюк на протеолітичні процеси у тканинах легень*. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини», Київ, 16 березня 2022 року – Київ – С. 112.

7. Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko & Oleksandr Maievskyi (2022). *Protein homeostasis of lung tissue under the influence of Vipera berus berus and Vipera berus nikolskii poison*. 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists, Istanbul, 5–7 August 2022 – Istanbul, Türkiye – P. 122.

8. Ласавуц В. С., Маєвський О. Є., & Яременко Л. М. (2023). *Вплив отрути гадюки Vipera berus berus та Vipera nikolskii на клітинний склад легень щурів*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, Київ, 8 - 9 червня 2023 – Київ – С. 124.

9. L. Sokurenko, V. Lasavutz & O. Maievskyi (2023). *Peptide changes in lung tissue under the influence of Vipera berus berus and berus nikolskii venom*. The 47th FEBS Congress, Paris, 8 – 12 July 2023 – Paris, France. – P. 209.

10. Vladislav Lasavutz, Oleksandr Maievskyi & Liudmyla Sokurenko (2024). *Proteolytic activity of vipera berus berus and Berus nikolskii venom on lung tissue*. Biochem, Strasbourg, 18–19 April 2024 – Strasbourg, France – P. 59.

ЗМІСТ

	стор.
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	20
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПРОБЛЕМУ МОРФОЛОГІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ЗМІН ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ДІЇ СТРЕСОРНИХ ФАКТОРІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	29
1.1 Особливості впливу отрути гадюк на показники гомеостазу ссавців	29
1.2. Механізми ураження легеневої тканини за умов дії різних пошкоджуючих факторів	39
РОЗДІЛ 2 ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	51
2.1. Загальна методика і об'єкти дослідження	
2.2. Методи дослідження	52
2.2.1. Біохімічні і лабораторні	
2.2.2. Гістологічні	61
2.2.3. Гістохімічні	
2.2.4. Електронно-мікроскопічні.	62
2.2.5. Статистичного аналізу.	
РОЗДІЛ 3 БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS	63
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS	71

4.1 Морфологічна характеристика легень щурів контрольної групи тварин

4.2. Морфологічна характеристика легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

4.3. Морфологічна характеристика легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

РОЗДІЛ 5 ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS 92

5.1 Електронно-мікроскопічна характеристика легень щурів контрольної групи тварин

5.2 Ультрамiкроскопічні зміни легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

5.3 Ультрамiкроскопічні зміни легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 111

ВИСНОВКИ 121

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 124

ДОДАТКИ 147

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

АДФ – аденозиндифосфат
АМРА – асиметричний диметиларгінін
АФК – активні форми кисню
ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ДСН – додецилсульфат натрію
ЕДТА – етилендіамінтетраоцтова кислота
ЕПС – ендоплазматична сітка
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
МАТ – S-аденозилметіонінсинтетаза
МДА – малоновий діальдегід
МСМ – молекули середньої маси
НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
НАЖХП – неалкогольна жирова хвороба печінки
ОРД – о-фенілендіамін
ОС – окисний стрес
ПААГ – поліакриламідний гель
ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
СРБ – С-реактивний білок
ТМБ – тетраметилбензидин
ТХО – трихлороцтова кислота
ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень
ЦД – цукровий діабет
ЦП – цироз печінки
ШКТ – шлунково-кишковий тракт
ВНМТ – бетаїн-гомоцистеїн-S-метилтрансфераза
СBS – цистатіонін β -синтаза

CSE – цистатіонін γ -ліаза
GP – глутатіон пероксидаза
 H_2S – гідроген сульфід
HMGR – гідроксиметилглутирин-КоА-редуктаза
MAPK – мітогенактивована протеїнкіназа
MMP – матриксні металопротеїнази
MS – метіонінсинтаза
MTHFR – метилентетрагідрофолатредуктаза
NF- κ B – некротичний фактор капа- β
NMDA – N-метил-D-аспартат
NO – оксид азоту
NOS – синтаза оксиду азоту
PMSF – фенілметилсульфонілфторид
SAH – S-аденозилгомоцистеїн
SAHH – S-аденозилгомоцистеїнгідролаза
SAM – S-аденозилметіонін
SDH – сукцинатдегідрогеназа
SOD – супероксиддисмутаза
TGF β – трансформуючий фактор росту β
TIMP – тканинний інгібітор матриксних металопротеїназ
TNF- α – туморонекротичний фактор α

ВСТУП

Актуальність теми. Патологія структур легень в умовах сучасного світу є надзвичайно поширеним явищем. Ускладнення з боку дихальної системи зустрічаються при серцево-судинних, ревматологічних, онкологічних захворюваннях тощо. Протягом останніх років серед наукової спільноти поширеним є термін «стресорних легень», що характеризує цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних змін в бронхо-легеневій системі при дії факторів екзо- чи ендогенного походження. Однак і досі не розкрита повна картина морфологічних змін в тканині легень при дії стресорних чинників, таких як отруєння токсинами природного походження.

Багато досліджень чітко демонструють, що укуси отруйних тварин, таких як змії, призводять до токсичного стресу в організмі жертви, що в свою чергу, викликає пошкодження органів та систем організму. Не дивлячись на це, на сьогоднішній день відсутні дані, що описують повний комплекс гістологічних змін в легенях при укусах отруйних змій. Наявні дослідження нечисельні і не розкривають основних патогенетичних ланок розвитку того, чи іншого ускладнення зі сторони дихальної системи за даних умов. Зокрема, в літературних джерелах повністю відсутні дані щодо впливу токсинів гадюк *V. berus* і *V. nikolskii* на структуру та функції дихальної системи, що пояснює важливість нашого дослідження.

Біохімічні дослідження крові є важливим інструментом для діагностики різноманітних патологічних станів, виявлення ускладнень та контролю лікувальних заходів. Більшість експериментальних досліджень, щодо вивчення морфологічних змін внутрішніх органів після укусів змій, супроводжувались також аналізом основних біохімічних параметрів [100]. Внаслідок отруєння токсинами змій у постраждалих спостерігаються зниження рівня гемоглобіну, зростання креатиніну, КФК, АСТ, АЛТ та ЛДГ [21]. Значне падіння концентрації гемоглобіну та підвищення ЛДГ свідчить про розвиток гемолітичної анемії. Крім того, ступінь підвищення ЛДГ вказує на важкість гемолізу, а, отже, і на активність гемотоксинів отруту. Зростання АСТ та АЛТ

після укусу змій свідчить про ураження клітин печінки. Згідно припущень, PLA2 з токсинів змій здатна активувати ендогенні PLA2, що присутні в мембранах гепатоцитів. Останні гідролізують жирні кислоти фосфоліпідів мембран, призводять до деградації плазмолемі печінкових клітин і продукції прозапальних цитокінів. Також наявні дані щодо прямого токсичного впливу отрути змій на гепатоцити та запуску некрозу останніх [16; 105].

Смертність після ураження за даними вітчизняних досліджень становить 1 %. Визначальними факторами клінічних симптомів та ускладнень є чисельні ферменти токсинів гадюки. В більшості випадків вони спричиняють розлади системи коагуляції, ураження м'язів, набряки, тощо [8].

Склад змійної отрути і її вплив на організм людини різноманітні. Домінування певних компонентів токсинів відіграє вирішальну роль у розвитку ускладнень або потенційних летальних наслідків. Незважаючи на численні дослідження, проведені в усьому світі, конкретні компоненти змійних токсинів, механізми їх дії та те, як вони завдають шкоди внутрішнім органам, залишаються неясними. Примітно, що процеси, які призводять до пошкодження легеневої тканини, не були повністю вивчені, залишаючи прогалину в знаннях щодо морфологічних змін, що спостерігаються на різних рівнях спостереження. До того, на даний момент немає даних про вплив токсинів *V. berus* на числені функції і структури дихальної системи. Таким чином, подальше дослідження цієї теми має важливе значення для покращення ранньої діагностики, запобігання ускладнень і вдосконалення стратегій лікування.

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-дослідної роботи кафедри гістології та ембріології "Вивчити тканинні реакції різних відділів нервової системи та внутрішніх органів на ураження різного генезу, та їх модуляцію. Педагогічні аспекти викладання гістології» (номер державної реєстрації 0123U101216).

Мета дослідження – визначення особливостей морфологічних та біохімічних параметрів структури легень щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*.

Завдання дослідження:

1. Виявити на світлооптичному рівні прояви пошкодження легень щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*.
2. Встановити ультраструктурні зміни в легенях щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*.
3. Визначити біохімічні маркери ураження легеневої тканини щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*.

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

Предмет дослідження – гістологічні, ультраструктурні, гістохімічні та біохімічні зміни легень щурів при впливі отрути змій виду *Vipera berus*.

Методи дослідження: гістологічний – для вивчення змін мікроструктури структурних елементів легень; електронно-мікроскопічний – для вивчення змін ультраструктури складових елементів легень; біохімічний – для визначення зміни маркерів, що відображають ураження легень щурів; гістохімічний – для визначення змін експресії маркерів, що відображають ураження легень; математичної статистики – для оцінки залежності змін між біохімічними параметрами та структурними змінами легень щурів.

Наукова новизна одержаних результатів. В ході проведеного дослідження вперше встановлені *гістологічні* (за умов впливу отрути *Vipera berus berus*: значні зміни судинного, стромального та перенхіматозного компонентів легень, перебудова судинного русла, з формуванням коагулопатій, тромбозів; підвищення проникності стінки судин супроводжується розвитком ДВЗ-синдрому та крововиливами; в стінці бронхів та респіраторному відділі легень – запальні явища, скупчення пінистих макрофагів. Ці явища відбуваються на тлі ремоделювання

компонентів респіраторного відділу легень: достовірне зростання середнього значення площі судин, бронхів та лімфоїдної тканини з формуванням значних площ дис- та ателектазів, зон емфіземи, що призводить до зменшення середнього значення площі легень з незміненою гістоструктурою. За умов впливу отрути *Vipera berus nikolskii* встановлено: глибокі деструктивно-дегенеративні зміни судин, бронхів та респіраторного відділу з розвитком ДВЗ-синдрому значних площ запалення, різними формами коагулопатій та дифузними і локальними крововиливами, що викликає збільшення середнього показника площі судин, середніх значень площі бронхів і лімфоїдної тканини, а також зниження середнього значення площі респіраторного відділу. Значення відносних площ дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої структури легень достовірно збільшується), **електронно-мікроскопічні** (при дії отрути *Vipera berus berus*: цитоплазматичні, периферичні ділянки альвеолоцитів I типу та ендотеліоцитів деструктуризовані, цілісність мембран порушена; гемокапіляри - з розширеними, повнокровними просвітами із стазами та сладжами еритроцитів, цілісність міжклітинних контактів порушена, стінка альвеол потовщена; більшість мембранних органел синтетичного апарату альвеолоцитів II типу вакуолізовані, з пошкодженням мембран; виявляються деформовані пластинчасті тільця з фрагментованим або гомогенним осміофільним вмістом; мультивезикулярні тільця нечисельні; ламелярні тільця зливались у великі вакуолі із осміофільним вмістом всередині; в просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів, які формують об'ємні цитоплазматичні утвори; наявні в просвіті альвеол альтеративно змінені і молоді макрофаги. На тлі дії отрути *Vipera berus nikolskii*: прямі пошкодження стінки гемокапілярів із сладжами, стазами, тромбами та геморагіями; альвеолокапілярна базальна мембрана на значних площах гомогенна, набрякла, розпушена; пошкодження стінки альвеол, накопичення в їх просвіті клітинного детриту, фібрину та формених елементів крові із запальною реакцією з нагромадженням в просвіті альвеол нейтрофільних гранулоцитів; респіраторні епітеліоцити зонально втрачають

цілісність плазмолем; в секреторних альвеолоцитах зменшується число секреторних, ламелярних тілець в цитоплазмі, поодинокі визначаються щільні мультивезикулярні тілця; наявні в інтерстиції плазмоцити, в альвеолах значна кількість альвеолярних макрофагів), *та біохімічні* (значне зниження рівня загального протеїна, утворення протеїнів середньої та низької молекулярної маси, яких взагалі не існує в нормі; на фоні дії отрути *Vipera berus nikolskii* виникає розщеплення відносно більших кількостей високомолекулярних ферментів з одночасним утворенням більшої кількості ферментативних фракцій з меншою молекулярною масою; відносний вміст молекул середньої маси значно зростає) зміни в структурі легень щурів при впливі отрути *Vipera berus*.

Практичне значення отриманих результатів. Результати морфологічних, морфометричних та біохімічних досліджень, зразків крові та гомогенатів легень щурів, що зазнали впливу отрути виду *Vipera berus*, вказують на негативні гістологічні та біохімічні зміни в структурі легень. Це підкреслює необхідність подальших досліджень у розробці ефективних коригувальних заходів.

Результати досліджень використовуються в лекційних курсах та в ході проведення практичних занять на кафедрах: гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка; оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Здобувач брав активну участь у розробці та проведенні експериментального дослідження. Він самостійно зібрав та підготував матеріали для гістологічного аналізу, провів пошук патентної інформації, опанував наукову літературу та написав аналітичний огляд. Розділи його дослідження детально викладені в дисертації, де він також

розробив ключові теоретичні та практичні елементи дослідження. Разом з науковими керівниками він проаналізував результати та сформулював висновки. Гістологічний аналіз проводився при консультуванні д.б.н., професора З.М. Небесної (кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського). За підтримки д.б.н., професора О.М. Савчука з кафедри біохімії ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка проведені біохімічні дослідження. У публікаціях, написаних у співавторстві, здобувач представляє власні результати щодо біохімічних, гістологічних і, відповідно, морфометричних змін легень щурів, уражених отрутою змій *Vipera berus*.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини» (Київ, 2022 р); 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists (Istanbul, Türkiye, 2022 р); всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського (Київ, 2023 р); The 47th FEBS Congress (Paris, France, 2023 р); Biochem (Strasbourg, France, 2024).

Публікації. Опубліковано 5 наукових статей (з яких 2 – в виданнях, що відносяться до міжнародної наукометричної бази Scopus), з яких 4 статті – в наукових фахових журналах України; 3 – самостійних, а також 5 тез в матеріалах науково-практичних конференцій (з них 3 – міжнародні конгреси).

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 156 сторінках. Робота складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, аналітичного огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку літературних джерел, з яких 8 викладені кирилицею і 176 – латиницею,

та додатків. Дисертаційне дослідження ілюстровано 42 рисунками та 10 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПРОБЛЕМУ МОРФОЛОГІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ЗМІН ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ДІЇ СТРЕСОРНИХ ФАКТОРІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Особливості впливу отрути гадюк на показники гомеостазу ссавців.

В усьому світі щороку реєструють близько 5,4 млн випадків укусів змій. Приблизно половина з них стає причиною 81 000-138 000 смертей або призводить до інвалідності 400 000 людей. Не дивлячись на це, дана проблема є занедбаною в багатьох країнах Азії, Африки та Латинської Америки. Вважають, що смерть від укусів змій асоційовані з бідністю, оскільки відсутність належного доступу до медичних закладів у таких прошарків населення зумовлює розвиток летальних ускладнень [29, 46, 68]. Однак зміни клімату та розселення людей у районах, де ці види тварин є ендемічними, значно розширюють групи ризику, впливаючи не лише на бідних людей у цих регіонах. Наслідки укусів змій особливо серйозні для дітей та вагітних жінок. У дітей незріла імунна система та менша маса тіла, порівняно з дорослими, можуть призвести до серйозних ускладнень. Тим часом, у вагітних жінок проблеми із системою згортання крові можуть призвести до кровотечі або тромбозу, що в свою чергу може призвести до переривання вагітності на різних стадіях [72, 122, 132].

У травні 2019 року ВООЗ започаткувала програму, спрямовану на профілактику та лікування укусів змій шляхом розширення доступу до безпечних та ефективних методів лікування для постраждалих. Мета полягає в тому, щоб знизити рівень смертності та захворюваності на 50% до 2030 року. Крім того, акцент робиться на вивченні нових стратегій лікування, діагностики та профілактики, які могли б сприяти швидшому одужанню жертв [125].

Як повідомляє Міністерство охорони здоров'я України, з початку 2020 року в країні зареєстровано 36 випадків укусів змій, серед яких шестеро дітей. Ці інциденти сталися у Закарпатській, Львівській, Донецькій та Житомирській областях. Важливо, що з 2019 по 2020 рік не було жодного летального випадку, пов'язаного з отрутою змій. В Україні єдиними отруйними зміями є різні види гадюк: звичайна гадюка (*Vipera berus berus*), степова гадюка (*Vipera ursinii*), гадюка Нікольського (*Vipera berus nikolskii*), гадюка Ренара (*Vipera renardi*) та гадюка звичайна (*Vipera ammodytes*). Вони найбільш поширені у південній та східній частинах країни, тоді як лише один вид можна знайти у західних та північних регіонах [5, 6].

Зміїна отрута складається з широкого спектру компонентів, головним чином білків та пептидів різної молекулярної маси. Багато з цих компонентів діють синергетично, що призводить до швидкої дії токсинів на організм жертви. Добре задокументовано, що зміїна отрута викликає суттєві структурні зміни в серцево-судинній, дихальній, видільній, ендокринній, імунній та нервовій системах [8, 19, 21].

Наразі вчені по всьому світу досліджують компоненти зміїної отрути. Цей інтерес зумовлений різноманітним впливом отрути на організм жертви, а також її потенційним застосуванням у терапії та розробці протиотрути. Токсини різних родин змій демонструють значну варіативність. Тим не менш, дослідження показують, що багато структурних елементів є однаковими для всіх видів змій. У Європі найпоширенішими є гадюки *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii*, що призводить до нашої підвищеної уваги до вивчення токсинів цих видів та їхнього специфічного впливу на організм жертв [11, 12].

Літературні дані вказують, що отрута *V. berus berus* містить приблизно 25 білків та пептидів з ферментативними функціями, які переважно проявляють гемотоксичну дію. Гемотоксини цього виду змій можна класифікувати на основі механізму їхньої дії на такі групи: активатори факторів згортання крові, антикоагулянти, інгібітори та активатори тромбоцитів, агенти, що впливають на фібриноліз, та геморагічні речовини

[107]. Білки першої групи впливають на фактори згортання крові або безпосередньо взаємодіють з фібриногеном. Більшість з них призводять до утворення фібринопептидів А або В, або іноді обох. Утворені тромби нестабільні, що робить їх схильними до фібринолізу, ендogenous чи викликаного отрутою. Антикоагулянти включають серинові протеази, активатори білка С та фосфоліпазу А2 (PLA2). Білки, що активують тромбоцити, називаються лектиноподібними білками типу С та тромбін-подібними ферментами, тоді як деактиватори тромбоцитів складаються з дезінтегринів та металопротеїназ. Білки, пов'язані з фібринолізом, включають ті, що безпосередньо розкладають активатори фібрину та плазміну. Зрештою, геморагічні агенти або цитолізени, головним чином металопротеїнази, призводять до пошкодження судин та кровотечі. [48, 77, 110, 158, 181].

Серед білків, ідентифікованих в отруті *V. berus berus*, родина PLA2 становить найбільшу групу, на яку припадає близько 60%. Ці ферменти легкі, з молекулярною масою 14 кДа, що відповідає 115-133 амінокислотним залишкам. PLA2 може бути кислим, основним або нейтральним залежно від його амінокислотного складу. Типи I та II містяться в отруті майже всіх видів змій і відомі своїми нейротоксичними та міотоксичними ефектами. Кілька варіантів цього ферменту часто присутні в отруті різних змій, що призводить до різноманітних клінічних симптомів, таких як порушення згортання крові через пригнічену агрегацію тромбоцитів, порушення передачі імпульсів у нервово-м'язових синапсах та подальший параліч скелетних м'язів [14, 34]. Деякі PLA2 проявляють значні міотоксичні ефекти, що призводять до тяжкого міонекрозу, запалення, вивільнення цитокінів та болю, що характеризується термічною алодинією та механічною гіпералгезією [61, 104] — нейротоксичні ефекти ферменту зумовлені його дією на пресинаптичні мембрани або чутливі нервові закінчення. PLA2 гідролізує sn-2 ацильні зв'язки гліцерофосфоліпідів, сприяючи вивільненню вільних жирних кислот та лізофосфоліпідів, які опосередковують синтез простагландинів, лейкотрієнів та зрештою активують запальні реакції через каскад арахідонової кислоти [27, 36].

Друга за чисельністю група ферментів отрути складається з серинових протеаз. Наукова література вказує, що ці тромбіноподібні ферменти можуть каталізувати різні біохімічні реакції, які відіграють роль у каскаді згортання крові, фібринолізі та агрегації тромбоцитів. Вони сприяють розщепленню поліпептидних ланцюгів на С-кінцевому кінці позитивно заряджених або гідрофобних амінокислотних залишків. Їхній прокоагулянтний ефект активує протромбін та такі фактори, як V, VIII та X [96]. Антикоагулянтні властивості проявляються через активацію білка C, який інактивує фактори Va та VIIIa. На фібринолітичну активність впливають протеази, такі як тромбіноподібні ферменти або активатори плазміногену, які сприяють видаленню фібрину зі згустків і можуть призвести до коагулопатії [76, 103, 161].

Металопротеїнази зміїної отрути (SVMP) є ключовими компонентами отрути, що виробляється зміями родини Viperidae. Ці цинкзалежні ферменти з молекулярною масою від 20 до 110 кДа відповідають за руйнування різних компонентів базальних мембран, включаючи ламінін, нідоген, фібронектин, колаген IV типу та протеоглікани. SVMP поділяються на три типи за структурними доменами: P-I, P-II та P-III [35, 49, 121, 127, 156]. Тип P-I має лише каталітичний домен, тоді як типи P-II та P-III містять додаткові некаталітичні області. SVMP можуть пригнічувати передачу нервових імпульсів, призводити до протеолізу тканин та викликати негайну кровотечу [180]. Серед компонентів отрути *V. berus berus* найбільш помітними є SVMP III та дизінтегрин-подібні та багаті на цистеїн типи. Тип P-III є небезпечним, оскільки може призвести до сильних кровотеч, розщеплюючи критичні компоненти базальної мембрани капілярів та порушуючи міжклітинні зв'язки, що пошкоджує стінки мікросудин. Такі значні кровотечі можуть призвести до серйозних наслідків, включаючи внутрішньочерепні проблеми, які можуть призвести до інсультів та значних неврологічних розладів [60, 84, 112, 139, 143, 171].

L-амінокислотні оксидази (LAAOS) сприяють токсичності численних видів змій. Їхня токсична дія є результатом оксидативного стресу (OS), що

виникає під час оксидативного дезамінування L-амінокислот, що призводить до накопичення перекису водню. Крім того, LAAOS мають антикоагулянтні властивості та пригнічують агрегацію тромбоцитів [69, 73, 123, 157, 161].

Різноманітний спектр білків зміїної отрути, відомих як «snaclecs», класифікується як лектиноподібні білки С-типу. Більшість із них є неферментативними гомодимерами вагою від 26 до 28 кДа та складаються з окремих субодиниць вагою 13 та 18 кДа. Їхня основна роль полягає в аглютинації еритроцитів. Крім того, вони можуть утворювати гетеро- або олігомери, впливаючи на активацію або пригнічення активності тромбоцитів [28, 42, 97, 147].

Аналіз наукової літератури виявляє численні дослідження, зосереджені на дезінтегрантах, що містяться в зміїній отруті. Інтегрини, сімейство трансмембранних рецепторів, відіграють вирішальну роль у міжклітинних взаємодіях і допомагають клітинам прилипати до білкових компонентів позаклітинного матриксу. Нещодавні дані показують, що певні білки зміїного токсину взаємодіють з рецепторами інтегринів, що дозволяє класифікувати їх як дезінтегрини. Ці білки зазвичай мають амінокислотні послідовності RGD/KGD або KTS, які є поширеними серед представників їхньої групи. Зокрема, вони мають антикоагулянтні властивості та пригнічують адгезію клітин, опосередковану інтегрином. Ланцюги послідовностей RGD (Arg-Gly-Asp) та KGD (Lys-Gly-Asp) вибірково зв'язуються з рецепторами інтегринів на тромбоцитах, запобігаючи взаємодії фібриногену з комплексом рецептор-глікопротеїн. Дезінтегрини функціонують як антагоністи рецепторів і перешкоджають агрегації тромбоцитів, викликаних АДФ, тромбіном, фактором активації тромбоцитів та колагено [16, 37, 88, 89, 95].

Поряд із впливом на згортання крові, отрута гадюк родини Viperidae також проявляє нейротоксичні властивості. Нейротоксини взаємодіють з рецепторами як агоністи, антагоністи або алостеричні регулятори, пригнічуючи передачу нервово-м'язових імпульсів та впливаючи на пре- та постсинаптичні мембрани. Примітно, що трипетлеві токсини займають

важливе місце в цій категорії. Вони класифікуються як постсинаптичні нейротоксини та відрізняються структурою поліпептидного ланцюга, розрізняючи їх як коротколанцюгові токсини з 57-62 амінокислотними залишками та чотирма дисульфідними містками, так і довголанцюгові токсини, що містять 66-74 амінокислотні залишки та п'ять дисульфідних містків. Дослідження показують, що ці токсини націлені на різні молекулярні утворення, включаючи мускаринові та нікотинові ацетилхолінові рецептори та L-типу кальцієві канали. Окрім нейротоксичної дії, вони також можуть здійснювати іншу біологічну активність. Наприклад, кальцисептин, блокатор L-типу кальцієвих каналів, викликає вазорелаксацію шляхом розслаблення гладком'язових клітин судин, що призводить до гіпотензії. Крім того, було задокументовано вплив трипетлевих токсинів на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів [117, 120].

Як зазначалося раніше, більшість PLA2 функціонують як пресинаптичні нейротоксини. Дослідження показують, що цей компонент призводить до млявого паралічу, пригнічуючи передачу нервових імпульсів у нервово-м'язовому з'єднанні. Ступінь паралічу може коливатися від помірного до небезпечного для життя, залежно від таких факторів, як кількість отрути, що потрапила в кров, її склад та швидкість лікування [43, 66, 149, 155]. Як правило, параліч починається низхідним шляхом, спочатку вражаючи м'язи повік, що призводить до двостороннього птозу. Згодом виникають зовнішня офтальмоплегія та слабкість мимічних м'язів, що супроводжуються невиразною мовою та утрудненням відкривання рота. Критичний стан виникає, коли уражаються дихальні м'язи, що призводить до гіповентиляції або дихальної недостатності. Крім того, деякі дослідження вказують на потенційне ураження ЦНС. Однак це виникає не через прямий нейротоксичний ефект отрути, а через гемотоксичну та тромботичну дію ферментів, що беруть участь [113, 130, 137, 151, 152, 175].

Склад отрути гадюки *V. berus nikolskii* наразі активно досліджується. Відомо, що він дуже схожий на токсини, виявлені у *V. berus berus*. Переважні

групи ферментів включають PLA2, що становить приблизно 65% сухої маси, та серинові протеази, на які припадає 19%. Вчені зазначили, що первинні симптоми після укусу цього виду змій локалізовані, включаючи набряк, лімфангіт та біль. Однак у дослідженнях *in vivo* на мишах отрута *V. berus nikolskii* виявила легкий нейротоксичний ефект, що призвело до млявого паралічу [12, 185].

Багато досліджень переконливо демонструють, що укуси отруйних тварин, таких як укуси змій, викликають токсичний стрес у жертв, що призводить до уражень внутрішніх органів [10, 23, 26, 55, 78, 82, 98, 100, 106, 109, 168].

Дослідження показують, що токсини гадюки викликають значні структурні зміни в серці. Морфологічно це призводить до спостережуваних дегенеративних змін у міофібрилах, набряку та дезорганізації волокон серцевого м'яза. У цих випадках інтерміофібрилярні (міжфібрилярні) мітохондрії зазвичай демонструють змінені структури та дезорганізовані кристи. Спостереження свідчать про те, що потенційні механізми серцево-судинного ураження від укусів змій включають гіповолемічний шок від кровотечі, гіперкоагуляції або прямого токсичного впливу на серце [80, 126, 150]. Серцево-судинні ускладнення після укусів змій відзначалися через 48 годин, характеризуючись брадикардією та атріовентрикулярною блокадою. [24].

Дослідження підтверджують, що зміїна отрута має прямий токсичний вплив на міокард жертв. Фібриляція передсердь була помітною знахідкою серед цієї групи. Експерти вважають, що отрута може змінювати електрофізіологічні властивості мембран клітин серця, суттєво впливаючи на генерацію та провідність імпульсів. Крім того, були повідомлення про випадки інфаркту міокарда, що виникли після укусів змій. Хоча патофізіологічні механізми цього ускладнення залишаються незрозумілими, багато дослідників припускають, що воно є наслідком коронарного тромбозу, пов'язаного з активованими прокоагулянтними факторами, зниженням доставки кисню до

клітин серця, підвищенням в'язкості крові, гемолізом еритроцитів та вазоконстрикцією, викликаною ендотелінами токсину [81].

Отрута сіамської гадюки (*Daboia Siamensis*) суттєво впливає на структурні компоненти нирок пацієнтів. Гістологічні зміни відзначаються в клубочках нефронів та ниркових канальцях, причому останні демонструють помірну конгестію та канальцевий некроз. Зміни капілярних щілин зазвичай присутні в клубочках нефронів. Як у проксимальних, так і в дистальних звивистих канальцях спостерігається тяжка гідропічна дегенерація епітелію, що супроводжується цитоплазматичним набряком [38]. Також визнано, що укуси отруйних змій іноді можуть призвести до помірно вираженого некрозу, тубулорексису та пошкодження базальної мембрани. Набряк епітелію та накопичення білка в просвітах характерні для збірних протоків [50, 116, 129, 133, 141, 164].

Згідно з повідомленнями, гіпопітуїтаризм може розвинутиися після укусів отруйних змій, особливо гадюки Рассела. Дослідники виявили, що це захворювання вражає 10% пацієнтів. Спостереження показують, що пошкодження гіпофіза токсинами гадюки відбувається поступово. Спочатку залоза збільшується в розмірах під впливом або прямого впливу отрути, або підвищеної проникності її капілярів. Після цього виникає велика кровотеча та мікротромбоз через ДВЗ-синдром, що зрештою призводить до ішемічного некрозу гіпофіза. За цих обставин у пацієнтів спостерігалось зниження рівня гормону росту, кортикотропіну, гонадотропіну, пролактину та тиреотропіну. Цікаво, що гостра фаза гіпопітуїтаризму у жертв укусів змій була безсимптомною. Планові огляди через шість місяців після одужання у більшості випадків виявили ознаки хронічного гіпопітуїтаризму, який також часто проявлявся незначною кількістю симптомів або взагалі без них [22, 115, 128, 131, 148].

Наразі немає вичерпних даних, що окреслюють повний спектр гістологічних змін у легенях, що виникають внаслідок укусів отруйних змій. Існуючі дослідження обмежені та не можуть прояснити основні патогенетичні

механізми, що призводять до різних респіраторних ускладнень у цих випадках. Примітно, що в літературі бракує інформації щодо впливу токсинів гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii* на структуру та функцію дихальної системи, що підкреслює важливість нашого дослідження. Однак важливо враховувати результати конкретних, детальних досліджень, які ілюструють особливості бронхолегеневих ускладнень, спричинених укусами різних видів змій.

Дослідження показало, що секреторна PLA2 з отрути *Naja mossambica mossambica* запускає запальний процес у легенях через активацію макрофагів. PLA2 відома своєю здатністю гідролізувати жирні кислоти у фосфоліпідах клітинних мембран. Цей фермент, зокрема секреторна PLA2 (sPLA2) – відомий низькомолекулярний, Ca²⁺-залежний фермент – відіграє ключову роль. Під час запалення sPLA2 вивільняється в біологічні рідини та активує імунні клітини, особливо макрофаги. Дослідники зазначили, що фермент збільшує вироблення цитокінів альвеолярними макрофагами. Вони також вказали, що sPLA2 групи IIa та X сприяють секреції фактора росту судинного ендотелію A та C (VEGF-A та VEGF-C) у легневих макрофагах через рецептор-опосередкований механізм. Крім того, цей фермент змійної отрути посилює активність нейтрофілів, стимулюючи власну цитозольну PLA2 та призводячи до вироблення метаболітів арахідонової кислоти, що, у свою чергу, посилює синтез цитокінів, а саме TNF- α , IL-6 та IL-10, що призводить до значного запалення в тканині легень [46,47].

Дослідники виявили рідкісне ускладнення у пацієнтів після укусу горбатой гадюки (*Hypnale hypnale*). Легенева кровотеча, що супроводжувалася помірними змінами профілю коагуляції, була відзначена невдовзі після ін'єкції отрути. Крім того, були зареєстровані помітні ознаки застою крові та набряку в тканині легень. Автори припускають, що ці симптоми є наслідком значної кількості SVMP в отруті, які відіграють вирішальну роль у виникненні коагулопатії [153].

Нещодавні дослідження деяких авторів виявили значні гістологічні зміни в дихальній системі, спричинені укусами *Crotalus durissus terrificus*.

Аналіз зразків тканини легень, взятих через 2, 6 та 12 годин після підшкірного введення кротоксину мишам, показав зменшення розміру альвеолярних мішечків та збільшення товщини альвеолярних стінок. Спостережувані симптоми включали застійні явища, кровотечі, інфільтрацію тканини легень поліморфноядерними лейкоцитами та пінистими макрофагами, а також підвищену проникність легеневих судин. У гомогенатах спостерігалось підвищення активності мієлопероксидази. Крім того, було підтверджено, що кротоксин з отрути цієї гадюки проявляє нейротоксичні властивості. Як β -нейротоксин, він блокує імпульси на нервово-м'язових з'єднаннях, пригнічуючи вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних мембран та призводячи до постсинаптичної десенсибілізації нікотинових рецепторів, що призводить до млявого паралічу дихальних м'язів. Крім того, фосфоліпаза A2 (PLA2) – компонент кротоксину, що сприяє розпаду фосфоліпідів клітинних мембран, ініціюючи шлях арахідонової кислоти та вироблення простагландину E2 (PGE2), що пов'язано з мієотоксичними, нейротоксичними ефектами та активацією імунної відповіді [144].

У літературі зазначено, що отрута гадюки *Crotalus durissus cascavella* змінює гістологічну структуру бронхіального дерева, бронхіол та альвеол, що призводить до емфіземи та ателектазу. Ці структурні аномалії поєднуються з помірним набряком легеневої тканини, що є результатом прямої токсичної дії отрути. Примітною особливістю токсину є його здатність викликати гостре ураження дихальних шляхів, що морфологічно проявляється через інфільтрацію лімфоцитів та плазматичних клітин у легенях [17].

Склад зміїної отрути та її вплив на організм людини дуже різноманітні. Переважання певних компонентів токсину може бути вирішальним для виникнення ускладнень або летальних випадків. Хоча вчені в усьому світі провели масштабні дослідження, окремі компоненти зміїних токсинів, їхня дія та патогенез, що впливає на внутрішні органи, залишаються недостатньо вивченими. Примітно, що механізми пошкодження тканини легень у цих випадках ще не повністю відомі, що залишає прогалину в інформації щодо

морфологічних змін, які можна спостерігати як на світлооптичному, так і на субмікроскопічному рівнях. Отже, вивчення цієї теми є важливим для сприяння ранній діагностиці, запобігання ускладненням та вдосконалення методів лікування.

1.2. Механізми ураження легеневої тканини за умов дії різних пошкоджуючих факторів.

Патологія легеневої тканини є дуже поширеною проблемою сьогодні. Ускладнення з боку дихальної системи часто спостерігаються при серцево-судинних, ревматичних та онкологічних захворюваннях. Термін «стресова легень» останнім часом набув популярності в науковій спільноті. Цей термін описує різні компенсаторні та адаптивні зміни в бронхолегеневій системі, викликані екзогенними або ендогенними факторами [70].

Структура легень — це тонко налаштована та взаємопов'язана система, що робить їх особливо вразливими до пошкодження від постійного впливу навколишнього середовища через повітря. Як наслідок, респіраторні захворювання створюють значний тягар для суспільства. Як правило, компоненти легеневої тканини захищають організм від різних забруднювачів та алергенів, що забезпечується складними молекулярними та клітинними взаємодіями. Однак, виникнення патологічних станів порушує цей баланс, що призводить до пошкодження легень. Механізми пошкодження в дихальній системі є складними та варіюються залежно від природи шкідливого агента. Таким чином, важливо дослідити потенційні шляхи, що призводять до пошкодження легеневої тканини, та фактори, що запускають процеси, що беруть участь в основних аспектах патогенезу цього стану [32, 45, 99, 118].

Дифузне альвеолярне пошкодження (ДАП) – поширена форма гострого ураження легень, що характеризується реакцією легень на пошкодження

дихальних шляхів з різних причин, зокрема токсичних агентів. Цей стан може виникнути внаслідок вдихання таких речовин, як гербіциди, $ZnCl_2$, SO_2 , аміак та NO_2 , а також від хіміотерапевтичних препаратів та радіаційного опромінення [62, 101, 135, 174, 176, 178]. Критичним фактором прогресування ДАД є пошкодження судинного ендотелію та епітеліальних клітин у легенях. Вплив будь-якого із згаданих агентів призводить до одночасного пошкодження судинного ендотелію, що спричиняє підвищену проникність капілярів та некроз альвеолоцитів І типу. Це призводить до внутрішньоальвеолярного та інтерстиційного набряку та утворення численних гіалінових мембран, що вказує на гостру фазу стану [63]. Під час цієї фази значна кількість багатого на протеїн ексудату накопичується в альвеолярному просвіті через підвищену проникність аеро-гематичного бар'єру. Крім того, в альвеолах відбувається дегрануляція поліморфноядерних лейкоцитів, що вивільняє протеолітичні ферменти з лізосом разом із прозапальними цитокінами, такими як похідні арахідонової кислоти (простагландини та лейкотрієни) та активні форми кисню (АФК), включаючи оксид азоту (NO). Вивільнення цих протеолітичних ферментів сприяє руйнуванню міжклітинних зв'язків в альвеолах, що призводить до некрозу або апоптозу клітин.

Цитопатичне пошкодження епітелію часто проявляється такими ознаками, як атипові мітози та багатоядерні альвеолоцити. Настає стадія організації, що характеризується колапсом альвеол та розвитком фіброзу. На цій стадії також спостерігається збільшення кількості альвеолоцитів та фібробластів II типу, що призводить до потовщення міжальвеолярних перегородок разом із накопиченням колагенових волокон. У певних ділянках може утворюватися фіброателектаз. Література вказує на те, що нейтрофіли можуть активувати систему комплементу під час цієї фази, посилюючи дію хемотаксичних агентів, таких як еластаза та кисневі радикали, у легневих капілярах, що може пошкодити ендотелій. Тут з'являються численні піноцитотичні везикули, які пізніше замінюються вакуолізацією великих бульбашок, що сприяє відшаруванню ендотелію від базальної мембрани та

створює проміжки між епітеліальними клітинами стінки капілярів. Ці модифікації сприяють витоку протеїнів та компонентів крові з капілярів в альвеоли та приваблюють макрофаги до цих ділянок. Показано, що такі сполуки, як пероксинітрит, TNF- α , IL та ліпідні медіатори, сприяють пошкодженню тканини легень при ДАП. Під час цього процесу такі фактори, як фактор росту тромбоцитів, фактор росту фібробластів та фібрoneктин, відіграють певну роль у проліферації фібробластів [140, 165].

Вивчення того, як процеси утворення вільних радикалів впливають на морфологію тканин, є надзвичайно важливим. Активні форми кисню, побічні продукти клітинного метаболізму, відіграють ключову роль у накопиченні енергії, біотрансформації, експресії генів та клітинному поділі. АФК, що генеруються фагоцитами, захищають організм від чужорідних агентів, слугуючи вирішальним аспектом неспецифічного імунітету. Однак надмірне утворення АФК може призвести до оксидативного пошкодження різних біомолекул, що призводить до оксидативного стресу (ОС). Дихальна система особливо вразлива, оскільки її тканини безпосередньо контактують з киснем, який дифундує через альвеолярні стінки.

Клітини тканини легень містять високий рівень ненасичених жирних кислот, які служать субстратами для перекисного окислення ліпідів [83, 183]. Крім того, альвеолярні макрофаги, під впливом забруднюючих речовин та запалення, генерують активні форми кисню. Серед них є супероксид-аніон, який перетворюється на перекис водню (H_2O_2) супероксиддисмутазою (СОД). Обидва радикали відіграють певну роль у трансформації макромолекул у тканині легень та служать субстратами для створення сильніших оксидантів, таких як гідроксильний радикал, пероксинітрит та гіпохлорит. Ці активні форми кисню модифікують білки, надаючи їм антигенних властивостей. Їхня дія на ліпіди призводить до утворення хемоатрактантів, що призводить до посилення міграції макрофагів.

Участь ендогенного оксиду азоту у пошкодженні тканини легень добре відома. Він виробляється судинними ендотеліальними клітинами, базофілами,

макрофагами, нейтрофілами та гладком'язовими клітинами в бронхах та легневих артеріях. Оксид азоту зазвичай регулює запальні реакції та імунний захист, впливаючи на стінки бронхів, сприяючи розширенню шляхом пригнічення вивільнення ацетилхоліну, посилюючи активність миготливого епітелію та покращуючи мукоциліарний транспорт. Його синтез в організмі відбувається ферментативно, за участю NO-синтази (NOS) з L-аргініну. Під час запалення фагоцити значно сприяють виробленню NO, при цьому активовані фагоцити збільшують експресію індукцибельної NO-синтази (iNOS). Отриманий NO швидко потрапляє в інфіковані клітини, перешкоджаючи синтезу АТФ, порушуючи цикл Кребса та посилюючи цитотоксичність макрофагів. Підвищений рівень NO в запаленій тканині легень змінює секреторні та метаболічні функції альвеолярних макрофагів.

Крім того, NO пригнічує ліпоксигенази та NADPH-оксидази, що призводить до активації циклооксигенази (ЦОГ) та збільшує вироблення ліпідних медіаторів, що беруть участь у запаленні. Більше того, надмірний NO може перешкоджати проліферації лімфоцитів, одночасно сприяючи еозинофільній та нейтрофільній інфільтрації в дихальних шляхах. Крім того, він взаємодіє з супероксидом, сприяючи утворенню пероксинітриту, який пошкоджує ДНК, білки та ліпіди плазматичної мембрани, руйнує ендотеліальні клітини судинної стінки, збільшує агрегацію тромбоцитів та індукує апоптоз [13, 41, 71].

Альвеолярні макрофаги відіграють вирішальну роль у пошкодженні легень. Їх активація стимулює участь нейтрофілів та циркулюючих макрофагів у патологічному процесі, що зумовлено посиленою міграцією цих останніх клітин. Ці макрофаги виробляють різноманітні біологічно активні сполуки, такі як активні форми кисню, цитокіни, ейкозаноїди та протеолітичні ферменти, які підсилюють та посилюють запальні реакції. Також вважається, що ці медіатори життєво важливі для індукції загибелі клітин альвеолярного епітелію, зокрема альвеолоцитів другого порядку, які відповідають за синтез поверхнево-активної речовини [87].

Різні протеолітичні ферменти, такі як серин, цистеїнові протеази та металопротеїнази, сприяють механізмам пошкодження тканини легень. Металопротеїнази включають колагенази (ММР 1, 8, 13, 18), желатинази (ММР 2, 9), стромелізини (ММР 3, 10, 11) та мембранні типи (ММР 14, 15, 16, 17), а також інші, які не входять до відомих підродин (ММР 7, 12, 19, 20). Їхня основна роль полягає у видаленні компонентів позаклітинного матриксу, що робить їх ключовими гравцями в ремоделюванні тканин. Крім того, вони беруть участь в апоптозі та ангіогенезі. У тютюновому димі його компоненти можуть накопичуватися в тканині легень, викликаючи активацію нейтрофілів та альвеолярних макрофагів і активуючи різні протеолітичні ферменти, включаючи катепсини В, С, G, колагенази та еластазу [53]. Деякі компоненти тютюнового диму можуть призвести до оксидативного пошкодження макромолекул тканини легень, таких як протеїни, змінюючи їхню структуру та функцію через імуногенність. Окислювальний стрес часто супроводжується пошкодженням сполучної тканини дихальної системи, особливо в міжальвеолярних перегородках, сприяючи розвитку емфіземи. За нормальних обставин ММР беруть участь у клітинній сигналізації та впливають на компоненти матриксу сполучної тканини, міжклітинну комунікацію та вироблення біоактивних молекул. Однак експресія ММР значно змінюється в патологічних станах, що призводить до запалення та пошкодження тканини легень. Дослідження показують, що активовані альвеолярні макрофаги та нейтрофіли стимулюють вироблення ММР-9 (желатинази В, колагенази типу IV), яка бере участь у запаленні та прогресуванні емфіземи. TNF- α та IL-1 β додатково посилюють експресію ММР-9 макрофагами. ММР-9 також пов'язаний з активацією фіброзу легень, оскільки він сприяє синтезу трансформуючого фактора росту β 1 (TGF- β 1). Підвищене вироблення ММР-1 корелює з деструктивними станами тканини легень через його роль у руйнуванні внутрішньоклітинного колагену (тип III). ММР-12 аналогічно пов'язаний з емфіземою, як показано в дослідженнях на трансгенних мишах.

Цей фермент також індукує вивільнення TNF- α , який залучає нейтрофіли та запускає вироблення еластази [51, 56, 105].

Швидке зростання промисловості та включення наночастинок з різних металів, що містяться в добривах та кормах для тварин, підкреслюють необхідність дослідження їхнього впливу на структурні та функціональні характеристики легеневої тканини. Їхній малий розмір полегшує їх потрапляння в дихальну систему через вдихання [169]. Дослідники спостерігали гостру та підгостру легеневу токсичність ZnO після його інтратрахеального введення щурам. ZnO, джерело важливого мікроелемента цинку (Zn), відіграє вирішальну роль в активності кількох ферментів. Однак дослідження *in vitro* показують, що ZnO проявляє цитотоксичну дію навіть при низьких концентраціях, більше, ніж інші форми наноматеріалів. Дослідження показали, що наночастинки ZnO розміром 35 нм викликають запалення та цитотоксичність у тканині легень щурів після інгаляції або інтратрахеального впливу. Наночастинки такого розміру, як правило, швидко осідають в альвеолах, що дозволяє їм поглинатися в кровотік або лімфатичну систему [75]. Гістологічні дослідження виявили застій крові в легенях піддослідних, причому всі щури демонстрували надмірне відторгнення бронхіальних епітеліальних клітин. Були присутні помітні ознаки набряку, що вражав периваскулярні, субепітеліальні, інтерстиціальні та альвеолярні структури, що супроводжувалося інфільтрацією лімфоїдних клітин. Спорадично відзначалися випадки гіпертрофії або проліферації бронхоклітин. Аналіз бронхоальвеолярного лаважу показав збільшення кількості макрофагів, нейтрофілів та лімфоцитів, а також значну кількість еритроцитів, що свідчить про пошкодження епітеліального бар'єру та порушення цілісності клітинної мембрани. Ці спостереження підтверджувалися підвищенням концентрації білка в бронхоальвеолярному лаважі, що слугувало маркером клітинного пошкодження. Крім того, у щурів спостерігався оксидативний стрес у легенях, що характеризувався зниженою активністю глутатіонпероксидази (ГП) та каталази, а також підвищеним рівнем малонового діальдегіду (МДА).

Окреме дослідження, що вивчало вплив наночастинок міді на дихальну систему, показало, що ці речовини викликають оксидативний стрес (ОС) та пошкоджують тканини легень. Гістологічний аналіз показав значне запалення, при якому нейтрофіли та макрофаги накопичувалися в альвеолярному просвіті та інтерстиції легень, з вогнищевою гіперплазією епітеліальних клітин та потовщенням міжальвеолярних перегородок. Ця запальна реакція була зумовлена резидентними та мігруючими макрофагами, що продукували прозапальні цитокіни, виснажували механізми антиоксидантного захисту та активували транскрипційні фактори, пов'язані зі стресом, такі як NF- κ B. На пізніх стадіях дослідження спостерігався виражений інтерстиціальний фіброз, емфізематозні зміни, заміщення альвеолярного епітелію бронхіолярними клітинами, накопичення колагену та проліферація інтерстиціальних клітин легень [9, 57].

В останні роки багато досліджень присвячені впливу гербіцидів, особливо параквату, на структури органів та систем організму. Паракват, органічна сполука, зазвичай використовується як гербіцид у формі четвертинної амонієвої солі. Він становить ризик токсичності для тварин і людей, причому легені визначені як основний уражений орган. В експериментальному дослідженні щури отримували 15 мг/кг параквату шляхом внутрішньочеревної ін'єкції. Морфологічний аналіз легеневої тканини проводився через чотири дні після початку експерименту. Гістологічне дослідження виявило інфільтрацію запальних клітин в інтерстиціальних або перибронхіальних ділянках паренхіми легень [79, 179]. Було відзначено значний альвеолярний набряк та великі крововиливи. Ключовими характеристиками були потовщення міжальвеолярних перегородок, проліферація мезотеліальних клітин та мононуклеарне запалення нейтрофільними лейкоцитами. Дослідники вказали, що цей процес пов'язаний з оксидативним стресом (ОС) у легенях, що виникає внаслідок надмірного утворення супероксидного аніона та гідроксильного радикала, що призводить до перекисного окислення ліпідів клітинних мембран. Це дослідження

виявило помітне підвищення рівня MDA у крові тварин, що свідчить про серйозність оксидативного стресу. Крім того, спостерігалось підвищення рівня TGF- β 1, що сприяє розвитку фіброзу легеневої тканини. Після введення параквату активовані альвеолярні макрофаги секретують TGF- β 1, тоді як ці макрофаги також запускають вироблення різних цитокінів, включаючи TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 та IFN- γ , які посилюють фібропроліферативні реакції на пошкодження. Крім того, автори відзначили підвищення рівня неоптерину, похідного гуанозину та чутливого, специфічного маркера для активації моноцитарно-макрофагальної системи організму. Вважається, що неоптерин стимулює процеси вільного радикалу та транскрипцію NF- κ B, що може призвести до апоптозу епітеліальних клітин в альвеолах та вказувати на ступінь пошкодження легеневої тканини [102, 159, 177].

Досліджували характеристики пошкодження легень, викликаного радіацією, а також прогресування оксидативного стресу та ендотеліальної дисфункції в цьому контексті. Експериментальні щури отримали одноразову дозу опромінення 12 Гр. Автори класифікують пошкодження легень внаслідок опромінення на три стадії: початкова стадія виникає з 1-го по 7-й день; проміжна стадія охоплює з 14-го по 50-й день; і пізня стадія триває з 50-го по 90-й день. Під час початкової стадії виявляються морфологічні ознаки, такі як плеврит та набряк легеневої тканини, а також дисфункція ендотеліальних клітин легневих капілярів та альвеолярних епітеліальних клітин. Також спостерігається інфільтрація альвеолярних стінок моноцитарними макрофагами та відшарування альвеолоцитів II типу. До 7-го дня експерименту з'являються ознаки дизателектазу. Аналіз показників ОС у цей час виявляє підвищений рівень супероксидних аніонних радикалів, гідроксильних радикалів та метильних радикалів. На проміжній стадії спостерігається помітне потовщення міжальвеолярних перегородок, що є результатом активації синтезу колагенових волокон та інфільтрації фібробластів і лімфоцитів в альвеолярні стінки. На кінцевій стадії пошкодження легень відзначається помітне збільшення фіброзних змін у

паренхімі легень та стінках капілярів. Крім того, визначальною рисою цієї фази є зменшення капілярної мережі. У ділянках, де спостерігаються склеротичні зміни паренхіми, спостерігається збільшення кількості циркулюючих ендотеліальних клітин, що експресують VEGFR1, разом з двома рецепторними маркерами, що вказують на посилені процеси ангиогенезу [44, 52, 64, 163].

Іонізуюче випромінювання впливає на дихальну систему через продукцію активних форм кисню у клітинах внаслідок радіолізу води та виснаження ендогенних антиоксидантів. Ці АФК посилюють експресію хемокінів, цитокінів та молекул клітинної адгезії, що може спровокувати або погіршити запальні процеси. АФК, що утворюються іонізуючим випромінюванням, атакують фосфоліпіди клітинних мембран, активуючи перекисне окислення ліпідів та призводячи до загибелі клітин. У дослідженнях, де легені тварин опромінювали дозою 18 Гр, було відзначено оксидативний стрес, що призвело до збільшення вироблення вільних радикалів разом зі зниженням рівня SOD та GP. Це опромінення також викликало запальну реакцію, пов'язану з виробленням цитокінів, таких як IL-1, 6, 8, TNF- α , IFN- γ та TGF- β 1. Ці фактори спровокували активацію мітоген-активованої протеїнкінази, NF- κ B, NADPH-оксидази, iNOS та COX-2. Тут нейтрофіли продукували NADPH-оксидазу, тоді як макрофаги генерували iNOS. Запальна реакція в тканині легень за цих умов призвела до потовщення стінок судин легеневих капілярів, інфільтрації лейкоцитів у паренхіму та збільшення кількості макрофагів, нейтрофілів та лімфоцитів [135].

Пошкодження легень також може виникнути внаслідок вдихання галогенів, таких як хлор (Cl₂). Основною причиною токсичності хлору є оксидативний стрес. При вдиханні хлор реагує з антиоксидантами в рідині, що покриває дихальний епітелій. Згодом він взаємодіє з водою, утворюючи соляну та гіпохлорну кислоти. Система антиоксидантного захисту в тканині легень намагається впоратися з цими реактивними продуктами; їхні запаси виснажуються, що призводить до активації ОС. Ці реактивні побічні продукти

можуть окислювати плазмалогени, яких багато в тканині легень та поверхнево-активних речовинах, створюючи хлоровані ліпіди та хлорацетальдегід. Такі сполуки або атакуються нейтрофілами, або окислюються до хлоропальмітової та хлорстеаринової кислот. Хлоровані ліпіди можуть завдавати гострих та хронічних пошкоджень, взаємодіючи з бічними ланцюгами клітинних білків, ДНК та ліпідів, що вистилають дихальні шляхи. Вони також викликають запальні реакції, стимулюючи мітоген-активовані протеїнкінази або активуючи NF- κ B [182].

Ураження легень, викликане лікарськими засобами, є поширеним типом пневмопатії, що становить близько 3% усіх інтерстиціальних захворювань легень. Ліки можуть призвести до різних видів пошкодження паренхіми органу, що відображає численні морфологічні зміни. Ця пневмопатія може проявлятися як гострою, так і хронічною. Точні механізми пошкодження легеневої тканини, викликаного ліками, залишаються незрозумілими. Відомо, що в більшості випадків доза та тривалість вживання препаратів не є суттєвими факторами, що сприяють пошкодженню паренхіми, за винятком аміодарону та блеоміцину, які демонструють дозозалежні ефекти. Наразі визнано два основні механізми: один пов'язаний з прямим токсичним впливом препарату, а інший - імуноопосередкований. Токсичний вплив препаратів на паренхіму легень пошкоджує пневмоцити та ендотеліальні клітини в альвеолярних капілярах, вивільняючи цитокіни та мігруючи лейкоцити. Імуноопосередкований шлях пошкодження передбачає запуск препаратом будь-якої з чотирьох класичних реакцій гіперреактивності, зокрема III та IV типів. Однак, клінічні спостереження показують, що пряма пневмотоксичність є більш поширеною. Підвищена чутливість легеневої тканини до впливу препаратів може бути пов'язана з її унікальною морфологією та підвищеною метаболічною активністю, що сприяє значному утворенню вільних радикалів. Отже, оксидативний стрес відіграє вирішальну роль у прогресуванні цього патологічного стану. Крім того, спостерігається помітне пошкодження компонентів аеро-гематичного бар'єру, накопичення ліпідних сполук у

клітинах паренхіми легень, стан, відомий як фосфоліпідоз, та утворення антитіл та імунних комплексів [15, 86, 138, 172].

Наукові дослідження показують, що деякі психотропні препарати, такі як клозапін, можуть призвести до токсичного ураження легень у випадках передозування. Це відбувається через накопичення препарату та його метаболітів у тканині легень, що призводить до лімфоцитарного альвеоліту. Експериментальні дослідження показують, що вже через кілька годин після передозування спостерігається десквамація бронхіального епітелію та інфільтрація лімфоцитами та нейтрофілами в міжальвеолярних перегородках. У деяких ділянках спостерігаються ателектаз, дизателектаз та набряк міжальвеолярних перегородок. Автори також повідомляють про периваскулярний набряк, судинну конгестію та крововиливи. Ці зміни в тканині легень пояснюються підвищеною проникністю судинної стінки та прямим токсичним впливом клозапіну на епітеліальні клітини, що призводить до активації процесів перекисного окислення ліпідів та виснаження антиоксидантної захисної системи організму.

Пошкодження тканини легень є складним питанням, що виникає внаслідок різних структурних та функціональних змін. Його патогенез включає механізми вільних радикалів та запалення, головним чином керовані резидентними та мігруючими макрофагами та нейтрофілами. Крім того, численні медіатори, що виробляються внаслідок активації цих клітин, сприяють експресії багатьох протеаз, що призводить до значної деградації компонентів тканини легень та посилення фіброзних процесів. Нещодавні досягнення в розумінні механізмів гострого та хронічного ураження легень, спричиненого шкідливими факторами, надають можливості для розробки стратегій вирішення цих проблем. Однак численні патологічні стани, пов'язані з респіраторними ускладненнями, залишаються недостатньо вивченими. Тому дослідження в цій галузі є своєчасними та критично важливими в сучасному контексті.

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) [16]. Дотримання етичних принципів роботи засвідчено комітетом з біоетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 151 від 25.10.2021).

Щури знаходились в умовах віварію за стандартним раціоном в окремих місцях. Перед введенням речовин, що досліджувались, піддослідні тварини акліматизувалися в умовах дослідницької кімнати щонайменше 5 днів. Тварини розподілялись на три групи: 1 – контрольна (внутрішньоочеревинне введення фізіологічного розчину по 0,5 мл). 2 – тваринам внутрішньоочеревинно вводилась отрута *Vipera berus berus* (ED50 1,576 мкг/г). 3 - тварини, яким внутрішньоочеревинно вводилась отрута *Vipera berus nikolskii* (ED50 0,972 мкг/г).

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 добу проводили евтаназію шляхом декапітації. Після цього тварин розтинали і проводили ретельне макроскопічне дослідження з описом внутрішніх органів. Будь-які виявлені патологічні зміни були задокументовані та додатково проаналізовані за допомогою біохімічних, гістологічних, гістохімічних та електронно-мікроскопічних методів.

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

Реактиви та обладнання. Реагенти, використані в цьому дослідженні, включали казеїн, 0,05 М фосфатний буфер при pH 7,4, трихлороцтову кислоту, EDTA, трис(3-гідроксиметиламіноетан), гліцин, хлорид натрію, 96% етиловий спирт, бета-меркаптоетанол, акриламід, N,N'-метилен-біс-акриламід, амоній. персульфат, TEMED, додецилсульфат натрію (SDS), низькомолекулярні білкові маркери для електрофорезу та барвник Coomassie Brilliant Blue G-250 разом із крижаною оцтовою кислотою. Інші хімічні реактиви, включаючи солі, кислоти та луги, мали якість «хімічного та лабораторного класу» та «хімічного класу». Обладнання, що використовувалося в дослідженні, включало: апарат

препаративного вертикального дискового електрофорезу (BioRad, США), центрифугу SM-6M «ELMI», центрифугу Allegra 64R «Beckman Coulter», пристрій для зчитування мікропланшетів від BioTec, США, спектрофотометр Smart Spec Plus від BioRad, США, автоматичні піпетки та дозатори від Humapette, магнітні мішалки, термостати та додаткові продукти від компаній, що дотримуються стандарту ISO 9001. Пластиковий лабораторний посуд, у тому числі планшети для імуноферментного аналізу, пластини з неабсорбуючою поверхнею, епендорфи та пробірки, було придбано у Sente-Lab, тоді як скляний лабораторний посуд, такий як колби, мензурки, пробірки та циліндри, придбано у Simax.

Отримання гомогенату тканин щурів.

У період виділення всі процедури проводили при температурі 1-4°C. Для створення гомогенату зразки швидко вирізали, поміщали в чашку Петрі та промивали 0,9% NaCl. Відміряли масу 0,5 г органу, дрібно дрібнили ножицями і розташовували в скляному гомогенізаторі. Потім його гомогенізували в 50 mM трис-HCl буфері (включаючи 1 mM EDTA і 0,1 M трис-HCl при pH 7,4) у співвідношенні (тканина до буфера 1:10) 15 хвилин, з наступним центрифугуванням протягом 20 хвилин при 2500 об/хв. [7].

Кількісне визначення протеїну.

Кількість протеїну визначали за методом Bradford [31]. 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.

Концентрацію протеїну визначали додаванням суміші 30% розчину NaOH, дистильованої води та робочого розчину реактиву Бредфорда. Робочий розчин готували, змішуючи вихідний розчин реактиву з 95% етанолом і 88%

ортофосфорною кислотою у співвідношенні 2:1:2, потім розбавляючи водою до 100 мл. Основний розчин складався з 10 мл 95% етанолу, 20 мл 88% ортофосфорної кислоти і 35 мг кумасі діамантового синього. Після витримання суміші протягом 2-5 хвилин, інтенсивність забарвлення вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 595 нм, використовуючи дистильовану воду як контроль зразка. Концентрацію протеїна в зразку (мг/мл) розраховували на основі калібрувального графіка.

Приготування проб для електрофорезу.

Для досягнення повного розуміння, ПААГ зразки концентрують за допомогою трихлороцтової кислоти (ТХО). У цьому процесі зразки в мікропробірках змішують з 55% ТХО у співвідношенні 1:1 та інкубують протягом 10 хвилин. Після цього суміш центрифугують при 10 000 g протягом п'яти хвилин, а супернатант зливають. Згодом додають 0,5 мл ацетону та знову центрифугують зразок. Це очищення ацетоном повторюють 2-3 рази, після чого зразки залишають на ніч, щоб ацетон повністю випарувався. Після завершення випаровування зразки розчиняють у буфері для електрофорезу, що містить 0,01 М буфер Tris-HCl при pH 6,8, 2% додецилсульфату натрію, 10% сахарози та 0,01% бромфенолового синього, підтримуючи співвідношення 1:1. Для дискового електрофорезу зразки нагрівають протягом 2 хвилин, тоді як зразки, призначені для ферментативного електрофорезу, залишаються ненагрітими.

Диск-електрофорез в поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію.

Для отримання електрофореграми проводили диск-електрофорез за методом Леммлі [25]. 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 фореу 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 електрофореу (матеріал - платина) підключали до гнізда джерела живлення PowerPac Basic Power Supply (Bio-Rad). При проведенні досліду застосовували силу струму 19 мА в 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 [40]. 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 центрифугу 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.) [124]. Це дозволило стверджувати, що отриманий препарат є Глу-формою плазміногена.

Вимірювання протеолітичної активності ізольованого препарату Глу-плазміногену показало рівень 18 казеїнолітичних одиниць на міліграм протеїну [136]. Протягом 6-годинної інкубації плазміногену з хромогенним субстратом S₂₂₅₁ спонтанної активності не спостерігалось.

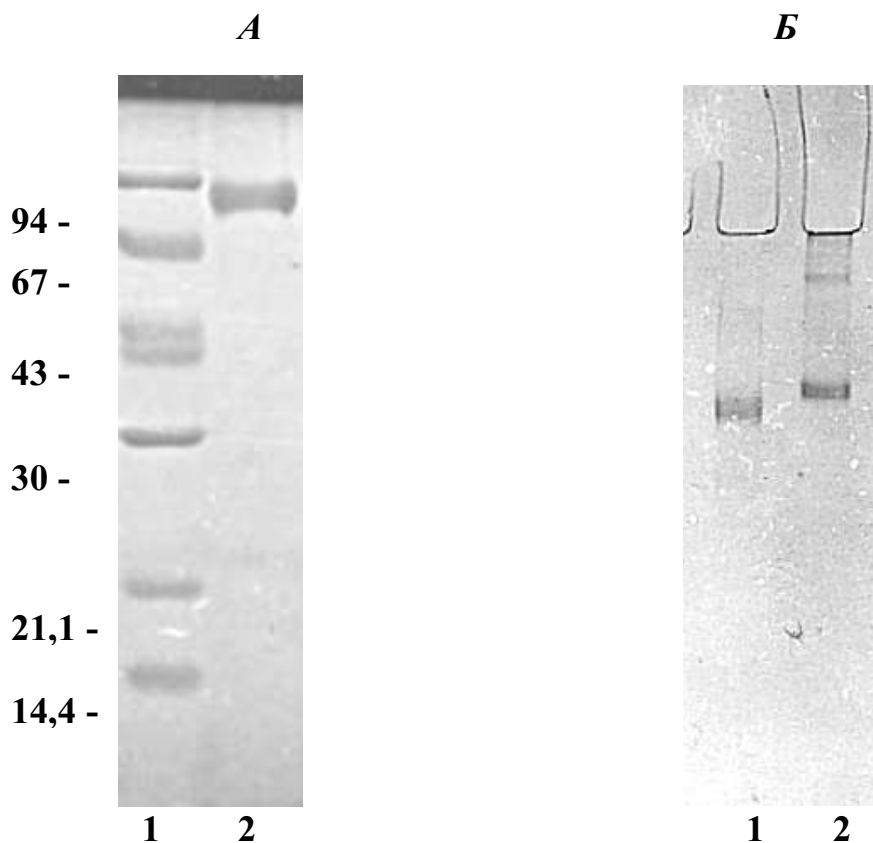


Рис. 2.1. А - Електрофореграма препаратів Пг в 8% ДС-Na-ПААГ за присутності β -меркаптоетанолу: 1 - протеїнові маркери (94, 67, 43, 30, 21,1; 14,4 кДа), 2 - Пг людини.

Б - Електрофореграма препаратів 1- Ліз-Пг, 2 - Глу-Пг в 10% ДС-Na-ПААГ рН 3,2.

Одержання плазміну.

Для активації плазміногену до плазміну було обрано метод з використанням іммобілізованої урокінази. Цей метод спрощує процедуру та зменшує витрати завдяки можливості повторного використання іммобілізованого активатора. Крім того, ця методика усуває необхідність додаткового очищення отриманого препарату плазміну від будь-яких активаторних забруднень або активаційних комплексів. Плазмін отримували з препаратів Glu-плазміногену за стандартним підходом [173], використовуючи урокіназу, іммобілізовану на BrCN-Sepharose 4b. Плазміноген інкубували з іммобілізованою урокіназою протягом 1 години при 37°C у 0,05 М Tris-HCl буфері, рН 7,4, що містив 0,15 М NaCl та 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 [2]. 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.

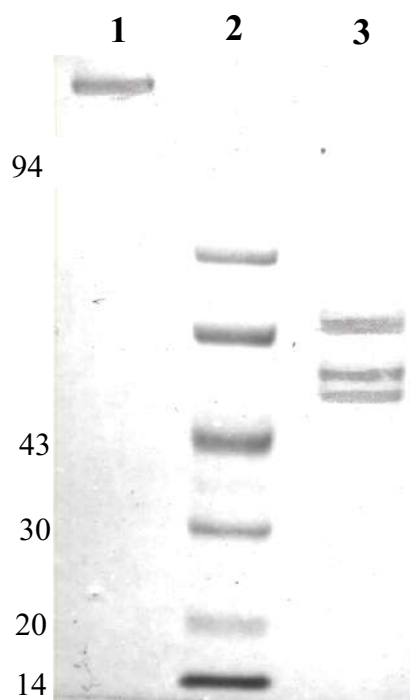


Рис. 2.2. Електрофореграма препаратів фібриногену.

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 визначення частки молекул із середньою молекулярною масою та їх концентрації в тканині було використано метод, описаний Ніколайчиком [119]. Протягом експерименту всі процедури проводилися на льоду з інкубаційним періодом 15 хвилин на кожному етапі. Високомолекулярні комплекси осаджували 1,2 М HClO_4 у співвідношенні 1:1, а потім центрифугували при 5000 g протягом 20 хвилин. Супернатант нейтралізували до рН 7,0 за допомогою 5 М KOH , а потім суміш піддавали повторному центрифугуванню при 2500 g протягом 20 хвилин. Згодом додавали етанол до досягнення кінцевої концентрації 80%, і суміш знову центрифугували при 2500 g протягом 15 хвилин. Нарешті, оптичну щільність вимірювали за допомогою спектрофотометра на довжинах хвиль 210, 238 та 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 [119]. Всі операції проводилися на льоду. Після кожної маніпуляції проби витримували протягом 15 хв.

Плазму розморожували прогріванням на водяній бані (37 °C) протягом 20 хв, після чого розмішували обережним перевертанням пробірки та негайно поміщали на лід. Плазму осаджували у співвідношенні 1:1 1,2 М HClO_4 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, міняючи рідку фазу. Ліофільне висушування проводили протягом 6 год.

2.2.2. Гістологічні.

Для мікроскопічного аналізу були отримані зразки легенів від попередньо зважених тварин у всіх групах. Зразки зберігали в 10% розчині формаліну, витримуючи не більше 1-2 діб. Цей фіксуючий розчин зупиняє аутоліз і стабілізує клітини та тканини для подальшого процесу та фарбування. Згодом зразки піддавалися дегідратації у зростаючих концентраціях спирту перед тим, як їх залити в парафінові блоки. Отримані зрізи товщиною 4-5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином, метиленовим синім і імпрегнували сріблом за методом Гордона-Світса для ідентифікації базальних мембран, ретикулярних волокон і незрілого колагену. Гістологічні зразки досліджували за допомогою світлового мікроскопа (SEO SCAN) і документували за допомогою камери Vision CCD [15].

2.2.3. Гістохімічні.

Матеріал для мікроскопічного дослідження збирали за стандартними протоколами. Зразки легень фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, зневоднювали поступово концентрованим спиртом, а потім заливали в парафінові блоки. Підготовлені зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували гематоксилін-еозином для ідентифікації глікозаміногліканів і глікопротеїнів у фіброзних структурах стромального судинного компонента. Реакцію PAS + "Hale" проводили за методом Моурі, а фарбування проводили за допомогою триколірного методу MSB (ОКГ), селективного методу фарбування для синдрому внутрішньосудинної коагуляції. Гістологічні зразки досліджували за допомогою світлового мікроскопа MICROmed SEO SCAN і фотографували за допомогою системи Vision CCD Camera.

2.2.4. Електронно-мікроскопічні.

Для проведення субмікроскопічних досліджень легень експериментальних щурів забирали зразки органу розміром 1 мм та фіксували в 1 % розчині чотирьохокису осмію за Колфільдом. Далі проводили зневоднення у спиртах зростаючої концентрації (70 %, 80 %, 90 %, 100 %) та ацетоні. Отриману суміш заливали в епон-аралдит, відповідно до стандартних методик. З блоків виготовляли напівтонкі зрізи, які забарвлювали толуїдиновим синім і за Хаят. Після попередньої орієнтації на напівтонких зрізах на ультратомах LKB III (Швеція) та Reihart (Австрія) виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували 2 % розчином уранілацетату та цитратом свинцю. Препарати досліджували та фотографували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К при збільшеннях в 4–10 тисяч раз.

2.2.5. Статистичного аналізу.

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

РОЗДІЛ 3

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ *VIPERA BERUS*

Протеїнові молекули в цілому та ферменти, що знаходяться в складі отрути змій, відіграють важливу роль у патофізіологічній дії отрути на організм. Активність цих протеїнових молекул проявляється в наступному: а) поява локальних капілярних ушкоджень і некрозів тканин; б) коагулянтна та антикоагулянтна дія на кров; в) гостра гіпотензія і болючі відчуття внаслідок вивільнення вазоактивних пептидів. Ряд ферментів розглядаються як токсичні компоненти (деякі фосфодіестерази, холінестерази, амінооксидази), однак жоден з них не відповідає за гостру токсичність отрути. Строгої класифікації ферментів, що містяться в зміїній отруті, немає. В отруті змій виявлено як мінімум 26 ферментів, 12 з яких є у всіх отрутах, хоча їх зміст значне варіює. Інші є компонентами отрути представників окремих таксономічних груп або характерні тільки для дуже малого числа видів [4]. Серед різноманіття компонентів отрути змій особливий інтерес мають ферменти-активатори та інгібітори, що діють на різні етапи зсідання крові – агрегацію тромбоцитів, активацію факторів зсідання крові, систему протеїну С. Деякі з них мають тромбіно-, плазміно- та калікреїноподібну активність.

В нашому дослідженні ми зробили спробу проаналізувати потенційний вплив отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii* на окремі компоненти протеїнового гомеостазу в клітинах легень щурів. Спочатку було досліджено коливання концентрації загального протеїна в клітинах легень за потенційного впливу досліджуваних отрут (табл.3.1).

Таблиця 3.1

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

	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
	65,01±1,56	60,92±1,30	51,29±4,85*

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

Як видно з представлених даних, отрута *Vipera berus berus* майже не впливає на концентрацію загального протеїну в легенях, в той же час отрута *Vipera berus nikolskii* значно знижує цей показник, що може свідчити про посилення процесів протеїнової деградації та потенційну активацію протеолітичних шляхів.

Для більш докладного аналізу протеїнового компоненту було проведено електрофоретичне дослідження якісного складу протеїнів в клітинах легень, використовуючи метод диск-електрофорезу в ПААГ з додецил сульфатом натрію. Після проведення обрахунків ми маємо наступні результати (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Якісний склад протеїнових молекул в клітинах легень за впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. 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
≥ 150 кДа	—	—	9,9	1	—	—
150-100 кДа	—	—	-	-	—	—
100- кДа	19,5	2	-	-	22,	5
-35 кДа	39,	2	32,59	1	28	
35-10 кДа	1 ,35	4	5 ,51	3	31,84	2
≤ 10 кДа	23,43	2	-	-	1 ,35	1

Досліджувані отрути показують різний вплив на якісний склад протеїнів в клітинах легень, але загальна тенденція впливу обох отрут – перерозподіл протеїнових молекул в бік зменшення молекулярної маси, що підтверджує постулат про те, що вплив отрути на клітини легень пов’язаний з посиленням процесів протеїнової деградації та протеолізу, і це в свою чергу призводить до потенційної появи низькомолекулярних пептидних молекул та молекул непротеїнової природи, які можуть бути чинниками ендогенної інтоксикації та тригерами запуску неконтрольованих біохімічних процесів та механізмів, як в структурі легень, так і в цілому організмі, на який діяла отрута.

Про потенційну патологічну активацію протеолітичних процесів під впливом досліджуваних отрут може свідчити збільшення кількості активних ферментних молекул та їх деградованих форм, що мають певну активність. Поява таких форм може бути спровокована як ферментними системами отрути, так і патологічною активацією шляхів протеолізу в організмі. Для перевірки цього ми провели аналіз активних ферментних молекул – протеаз, використовуючи метод ензим-електрофорезу в ПААГ з використанням в якості субстратів – желатину, фібриногену, колагену (табл.3.4, 3.5, 3.6).

Таблиця 3.3

Якісний склад активних протеолітичних ферментів в клітинах легень за умов впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. 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	70	1	45	1	40	2
67-35 кДа	30	1	25	2	30	2
35-10 кДа	--	--	30	1	30	1
≤ 10 кДа	--	--	---	--	--	--

Таблиця 3.4

**Якісний склад активних протеолітичних ферментів в клітинах
легень за умов впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii*
(субстрат желатин)**

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	--	--	--	--	--	--
67-35 кДа	100	1	65	1	55	1
35-10 кДа	--	--	35	2	45	2
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Таблиця 3.5

**Якісний склад активних протеолітичних ферментів в клітинах легень за
умов впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. 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	15	1	5	1	10	1
67-35 кДа	75	1	95	2	75	2
35-10 кДа	--	--	--	--	15	1
≤ 10 кДа	--	--	--	--	--	--

Аналіз отриманих даних підтверджує наше судження про посилення протеолітичних процесів в клітинах легень, та появі активних ферментних молекул, або їх «активних» фрагментів, що містять нативний каталітичний

домен, в якому знаходиться активний центр ферменту. Так, використання усіх 3-х субстратів показало наявність додаткових ферментних смуг з різною молекулярною масою у досліджуваних зразках легень. Зважаючи на молекулярну масу цих додаткових смуг, можна говорити про можливість появи деградованих форм нативних ферментів, що присутні в контрольному зразку.

Ендотоксикоз є основною причиною різних патологічних станів в організмі, особливо під впливом компонентів зміїної отрути. Існує теорія, згідно з якою під час патологічних процесів біологічні рідини накопичують значну кількість продуктів метаболізму, в першу чергу класифікованих як молекули середньої маси (МСМ) з молекулярною масою від 300-500 до 5000 дальтон. Ці МСМ негативно впливають на обмінні процеси в організмі [1]. Загальноприйнятим критерієм оцінки наявності та тяжкості синдрому «метаболічної інтоксикації» є концентрація МСМ у крові пацієнтів, оскільки у здорових людей ці молекули містяться лише в мінімальних кількостях. МСМ складаються, загалом, з пептидів, глікопептидів, продуктів розпаду фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагментів колагену та інших споріднених з білками речовин, включаючи похідні ліпідів і фосфоліпідів. Цей маркер є основним при оцінці інтоксикації різного походження та допомагає оцінити тяжкість патологічних станів. Були виявлені численні ефекти МСМ як у фізіологічному, так і в патологічному контексті. Накопичення цих молекул спостерігається при зниженій активності екзопептидаз, відповідальних за деградацію пептидів крові. Обмежене розуміння походження, методів утворення, структури і активності МСМ перешкоджає повному розумінню механізмів, що призводять до функціональних розладів, спричинених цими молекулами. Тим не менш, дослідження показують, що МСМ взаємодіють на рівні клітинних мембран. Деякі ідентифіковані сполуки серед МСМ виявляють властивості біорегулятора, що призводить до зниження потенціалу спокою клітини та електричного опору її мембрани. Через більшу поширеність гідрофобних амінокислотних залишків у пептидах середнього розміру ці

пептиди навряд чи можна знайти у значних кількостях у плазмі крові чи сечі, оскільки вони швидко зв'язуються ліпофільними структурами, присутніми в кровотоці відразу після їх утворення.

Зважаючи на вищезазначене та на отримані дані стосовно патологічної активації протеолітичних процесів в тканині легень досліджуваних тварин, ми проаналізували вміст молекул середньої маси за дії досліджуваних отрут (табл.3.6), та окремо дослідили якісний склад пептидної фракції молекул середньої маси, використовуючи хроматографію, що поділяє за розмірами на колонці з сефадексом Ж15 (табл.3.7)

Таблиця 3.6

Аналіз молекул середньої маси тканин легень за впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii*

	Контроль	<i>Vipera berus berus</i>	<i>Vipera berus nikolskii</i>
210 нм	11,20±1,17	15,72±1,14*	16,08±2,12*
238 нм	0,13±0,04	4,73±1,94*	7,69±0,14*
254 нм	0,85±0,08	3,75±1,78*	7,67±1,09*

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

Отримані результати по вмісту молекул середньої маси в досліджуваних зразках тканин показали значне підвищення усіх фракцій молекул (що було проаналізовано за різних довжин хвиль спектрофотометрично). Це свідчить про появу значної інтоксикації за дії досліджуваних отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii*. Аналіз показав відсутність різниці в діях обох отрут на процеси в тканинах легень, що призводять до значної появи молекул середньої маси різного фракційного складу. Поява цих молекул може провокувати запуск неконтрольованих біохімічних процесів, що можуть викликати певні патологічні прояви, як на рівні тканини так і на рівні цілого організму.

Пептидна складова загальної фракції молекул середньої маси може відігравати ключову роль в проведенні сигналіngu через рецептор-лігандні

взаємодії та бути тим чинником, який «вмикає або вимикає» певні біохімічні реакції в метаболічних шляхах різного значення. Це, в свою чергу, може бути чинником розвитку патології, використанно в певних випадках як прогностичні або діагностичні показники, певні очищені пептидні молекули можуть бути застосованно в якості потенційних фармакологічних речовин при станах організму, які мають протилежні метаболічні прояви ніж ті, при яких було ідентифіковано дані пептидні структури в організму.

В нашому випадку, дослідження потенційних змін пептидної складової загальної фракції молекул середньої маси вказує, що дія досліджуваних отрут на структуру легень може мати більш патологічні наслідки генералізованої відповіді на дію отрут, та мати вплив на цілий організм у вигляді непрогнозованих біохімічних реакцій (табл.3.7).

Таблиця 3.7

Якісний склад пептидів тканин легень за впливу отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii*

Групи	Молекулярна маса, Da	Площа пику, у.о.
Контроль	2147	0,091
	1782	0,063
	1309	0,121
	828	0,019
<i>Vipera berus berus</i>	2147	0,119
	1782	0,095
	1309	0,173
	1186	0,059
	828	0,042
<i>Vipera berus nikolskii</i>	2147	0,125
	1782	0,117
	1309	0,209

	1207	0,145
	828	0,067

Аналіз отриманих даних по якісному складу та вмісту окремих фракцій пептидних молекул у загальній фракції молекул середньої маси при впливі досліджуваних отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii* показав не тільки те, що відбувся певний перерозподіл вмісту усіх детектованих фракцій пептидних молекул з різною молекулярною масою в зразках тканин легень організму, на який подіяли досліджуваними отрутами, але і те, що дані отрути призводять до появи « нової » фракції пептидних молекул різної молекулярної маси, які не спостерігаються у контрольних зразках. Причому аналіз показав різницю молекулярних мас цієї « нової » пептидної фракції в залежності від отрути, яка діяла на організм.

Отримані дані показують значний вплив досліджуваних отрут гадюк *V. berus berus* та *V. berus nikolskii* на протеїновий гомеостаз тканини легень у піддослідних щурів, що обумовлює не тільки кількісні зміни протеїнових складових, але і значні якісні зміни у функціонуванні протеолітичних систем тканини легень за досліджуваних станів організму щурів.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті журналу (Польща), що відноситься до наукометричної бази Scopus [146] та чотирьох тезах науково-практичних конференцій [4, 90, 166, 167].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ *VIPERA BERUS*

4.1 Морфологічна характеристика легень щурів контрольної групи тварин

При мікроскопічному вивченні легень тварин інтактної групи встановлено, що вони ззовні покриті серозною оболонкою (вісцеральною плеврою), яка щільно зростається з стромальною сполучною тканиною, що включає еластичні волокна, та паренхіми органу: бронхів та респіраторного відділу. В прошарках пухкої сполучної тканини поблизу бронхів різного діаметру містяться кровоносні та лімфатичні судини.

Морфометрично встановлено, що середнє значення відносної площі респіраторного відділу інтактних тварин становить $(82,96 \pm 3,84) \%$, середнє значення відносної площі судин – $(4,82 \pm 0,21) \%$, середнє значення відносної площі бронхів – $(5,47 \pm 0,26) \%$ (табл. 4.1).

Бронхи сформовані трьома оболонками: слизовою з підслизовою основою, фіброзно-хрящовою та адвентиційною оболонками. Слизова включає епітеліальну, власну та м'язову пластинки. Епітеліальний шар утворений одношаровим багаторядним війчастим епітелієм. Власна пластинка та підслизова основа сформована пухкою сполучною тканиною, в якій містяться кінцеві секреторні відділи протеїново-слизових залоз, котрі із зменшенням калібру також зникають. М'язова пластинка найкраще виражена в малих бронхах де формує об'ємний, товстий пласт. Фіброзно-хрящова оболонка представлена у великих бронхах пластинками та острівцями гіалінового хряща, проте вже у середніх бронхах вона відсутня, що є видовою особливістю білих

лабораторних щурів. Адвентиція представлена пухкою сполучною тканиною, котра безпосередньо зростається з паренхімою легень (рис. 4.1, рис. 4.2).

Таблиця 4.1.

Співвідношення структурних компонентів легень тварин після впливу отрути гадюки степової та Нікольського ($m \pm m$)

Показник	Контрольна група	Гадюка степова	Гадюка Нікольського
Судини, %	$4,82 \pm 0,21$	$6,33 \pm 0,25$ ***	$7,48 \pm 0,32$ ***
Бронхи, %	$5,47 \pm 0,26$	$12,24 \pm 0,46$ ***	$13,63 \pm 0,58$ ***
Лімфоїдна тканина, %	$6,75 \pm 0,23$	$15,05 \pm 0,55$ ***	$17,40 \pm 0,74$ ***
Респіраторний відділ, %	$82,96 \pm 3,84$	$66,38 \pm 2,89$ ***	$61,49 \pm 2,71$ ***

Примітка. * – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників контрольної групи тварин (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$).

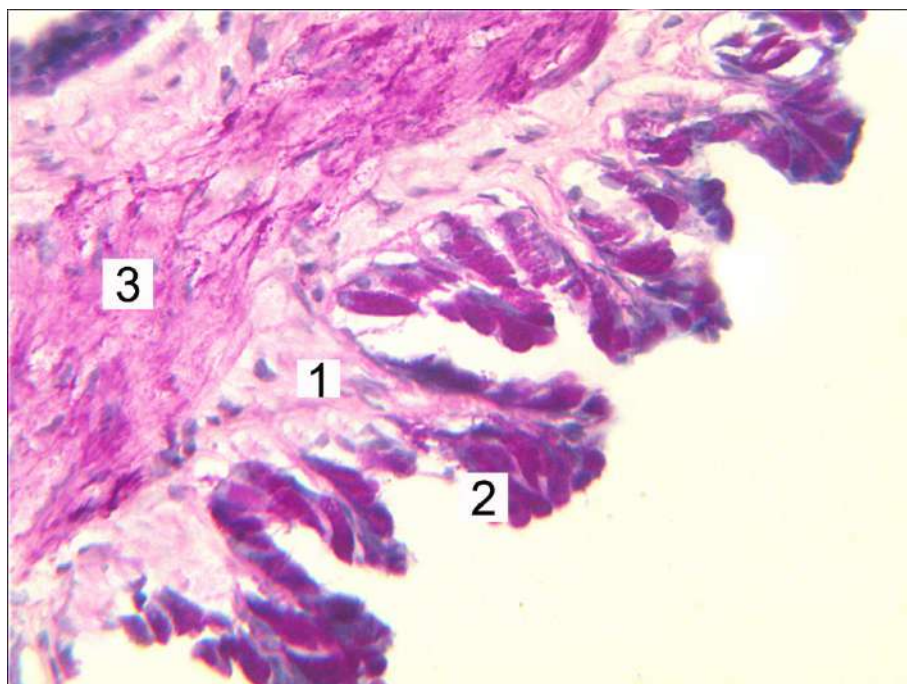


Рис. 4.1. Гістохімічна організація легені тварини інтактної групи. Епітеліальна пластинка (1), слизової оболонки з яскраво вираженими PAS-позитивними властивостями келихоподібних клітин (2), м'язова пластинка (3). Забарвлення за методом Моурі. $\times 400$.

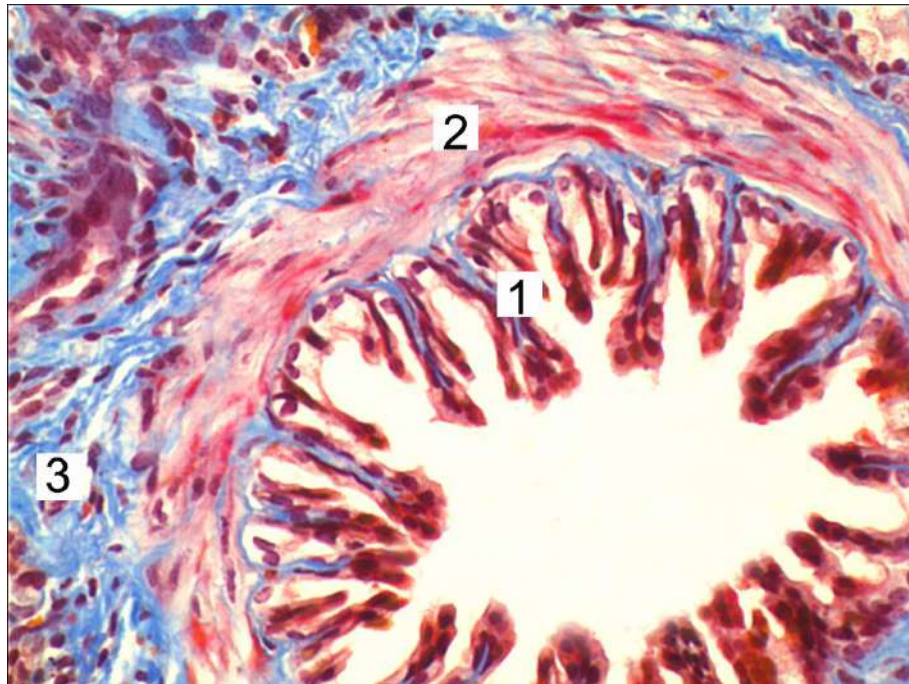


Рис. 4.2. Мікроскопічна організація бронха малого калібру легені щура інтактної групи. Складки слизової оболонки (1), м'язова пластинка (2), адвентиційна оболонка (3). Забарвлення методом MSB (ОКГ). $\times 400$.

В адвентиційній та фіброзно-хрящовій оболонці бронхів, рідше адвентиції судин, визначається накопичення лімфоцитів, які формують часто фолікули та забезпечують разом з іншими імунокомпетентними клітинами та структурами легень потужний імунний захист. Середнє значення площі лімфоїдної тканини легень інтактної групи становить $(82,96 \pm 3,84) \%$ (див. табл. 4.1).

В легенях по ходу бронхів і їх галуження проходять відповідно і судини венозного та артеріального русла до респіраторних бронхіол. Відповідно, судини визначаються великого, середнього та малого діаметрів, мають загальний план будови стінки, тобто включають інтиму, медію та адвентицію,

не мають видових особливостей. Інтима утворена ендотелієм, підендотеліальним шаром та внутрішньою еластичною мембраною, медія залежно від діаметру та переважно утворена гладкими міоцитами, яка інтенсивніше розвинена у артеріях, адвентиція представлена пухкою сполучною тканиною (рис. 4.3).

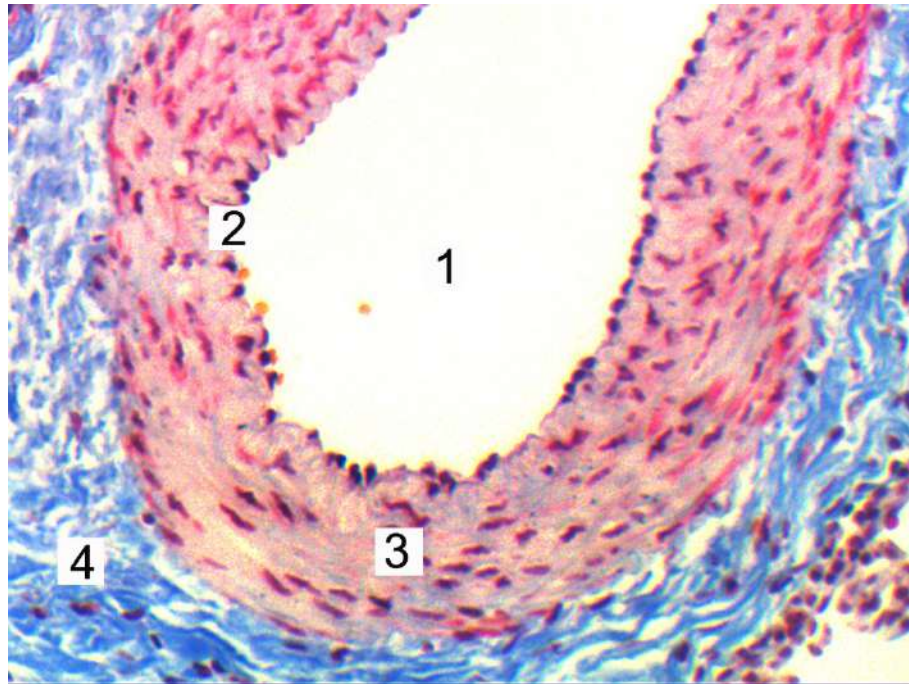


Рис. 4.3. Будова артерії легені щура інтактної групи. Просвіт артерії (1), інтима (2), медія (3), адвентиція (4). Забарвлення методом MSB (ОКГ). х 400.

Респіраторний відділ легень тварин утворений ацинусами, в склад яких входять респіраторні бронхіоли I, II, III порядків, альвеолярні ходи та альвеолярні мішечки. У всіх компонентах ацинуса містяться альвеоли, яких найменше у респіраторних бронхіолах, а найбільше в мішечках. Міжальвеолярні перегородки містять тонкі ретикулярні та еластичні волокна, клітини фібробластичного ряду та дуже добре розвинені судини гемомікроциркуляторного русла, зокрема гемокапіляри. Видовою особливістю респіраторного відділу білих щурів є відносно товста міжальвеолярна перегородка (рис. 4.4).

В респіраторному відділі тварин інтактної групи переважає тканина легень з незміненою гістоструктурою, проте в межах фізіологічної норми також

виявляються ділянки дис- та ателектазів, емфіземи. Відповідно середня площа тканини легень з незміненою гістоструктурою становить $(82,82 \pm 3,91) \%$, дис- ателектазів - $5,28 \pm 0,24 \%$, ателектазів – $(3,55 \pm 0,15) \%$, ефізематозно зміненої тканини легень – $(8,35 \pm 0,39)$ (табл. 4.1).

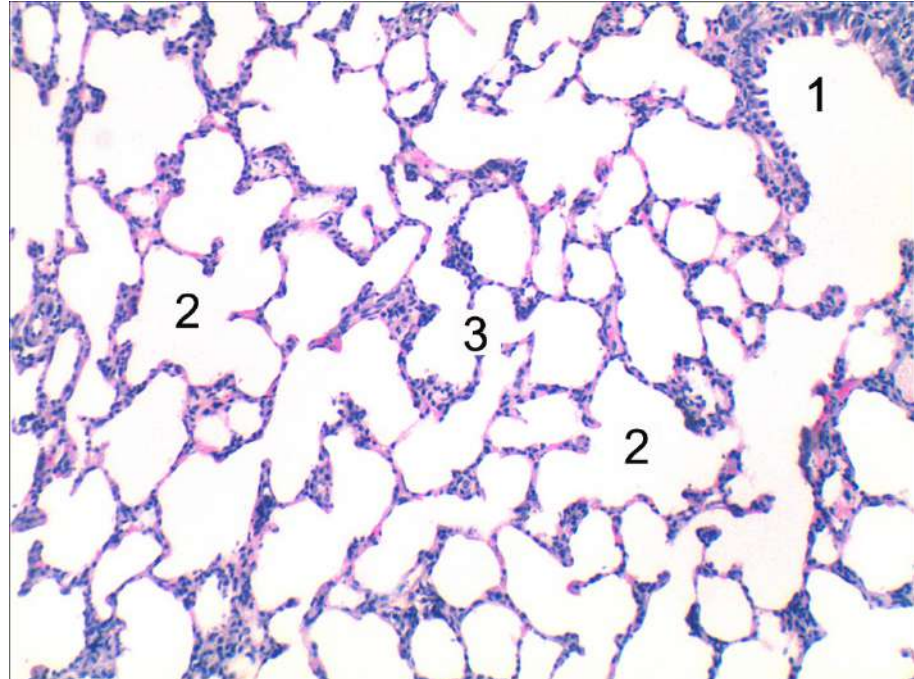


Рис. 4.4. Мікроскопічний стан респіраторного відділу легені тварини інтактної групи. Термінальна бронхіола (1), альвеолярні мішечки з альвеолами (2), міжальвеолярні перегородки (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200.

4.2 Морфологічна характеристика легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

Гістологічне дослідження легень експериментальних тварин при впливі отрути *Vipera berus berus* показало, що в органі відбуваються значні деструктивні та запальні зміни усіх складових компонентів. Гемотоксини спровокували гемодинамічні розлади із перебудовою стінок судин, зокрема підвищеною проникністю, що призводить до набряку стінки, дезорганізації

аморфного компоненту та волокон, периваскулярної, інтерстиційної та перибронхіальної сполучної тканини. Збільшення кількості глікопротеїнів в їх складі підтверджується вираженими PAS-позитивними властивостями, а перерозподіл та зростання кількості сульфатованих глікозаміногліканів з “Хейл”-позитивними властивостями (рис. 4.5).

Таблиця 4.2.

Співвідношення структурних компонентів респіраторного відділу легень тварин за умов впливу отрути *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* ($m \pm m$)

Терміни експерименту	Показники			
	Відносна частка легеневої тканини з незміненою гістоструктурою, %	Відносна частка ателектазів, %	Відносна частка дис-ателектазів, %	Відносна частка емфізематозно зміненої легеневої тканини, %
Контроль група	82,82 ± 3,91	3,55 ± 0,15	5,28 ± 0,24	8,35 ± 0,39
<i>Vipera berus berus</i>	26,06 ± 1,25 ***	25,38 ± 1,23 ***	31,85 ± 1,49 ***	16,71 ± 0,81 ***
<i>Vipera berus nikolskii</i>	9,33 ± 0,43 ***	31,24 ± 1,46 ***	35,04 ± 1,68 ***	24,39 ± 1,20 ***

Примітка. * – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників контрольної групи тварин (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$).

Токсичний вплив отрути *Vipera berus berus* провокує коагулопатії, що проявляється гістологічно стазами, складжами еритроцитів та формуванням тромбів. Розлади кровообігу супроводжуються накопиченням фібрину інтра- та екстраваскулярно, що підтверджує розвиток ДВЗ синдрому (рис. 4.6).

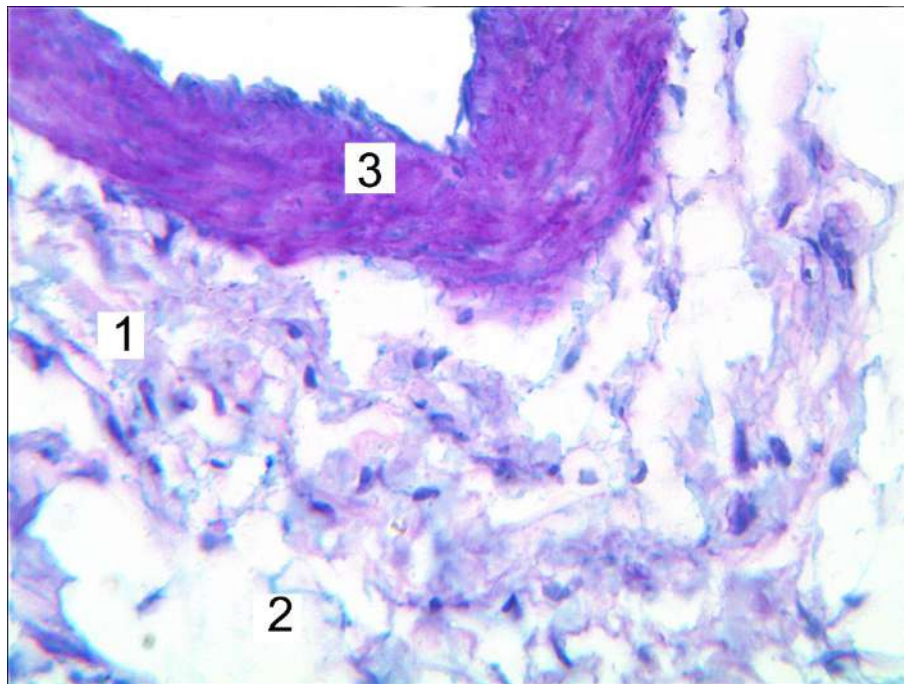


Рис. 4.5. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Колагенові волокна периваскулярної сполучної тканини з слабо вираженими PAS- позитивними властивостями (1), та інтенсивно вираженими “Хейл” позитивними властивостями глікозаміногліканів (2), медія артерії (3). Забарвлення за методом Моурі. х 400.

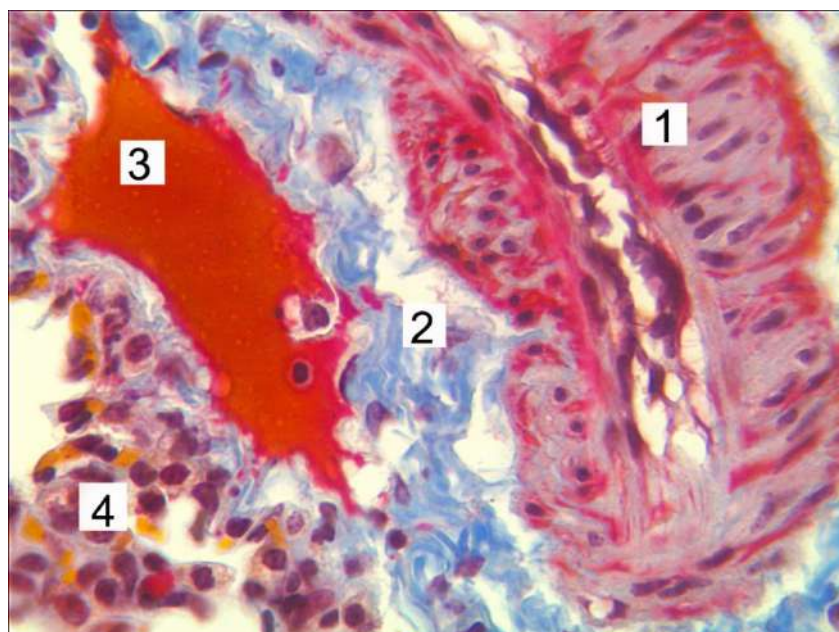


Рис. 4.6. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу гадюки степової. Набрякла медія артерії (1), дезорганізація волокон адвентиції (2),

периваскулярне накопичення фібрину (3), фрагмент респіраторного відділу (4). Забарвлення методом MSB (ОКГ). x 400.

Морфометрично досліджено достовірне зростання середнього значення площі судин у 1,31 рази ($p < 0,001$), відносно значення інтактної групи. Прогресивно зростали також середні значення площі бронхів та лімфоїдної тканини у 2,24 та 2,23 рази ($p < 0,001$) відносно середніх значень інтактної групи. Відповідно середній показник респіраторного відділу достовірно зменшується та складає 0,8 відносно інтактного значення (див. табл. 4.2)

В респіраторному відділі легень стінка альвеол переважно потовщена внаслідок набряку та інфільтрації клітинами гісто- та лейкоцитарного ряду. Виявляються обширні ділянки дис- та ателектазів, зон емфізематозно змінених легень (рис. 4.7).

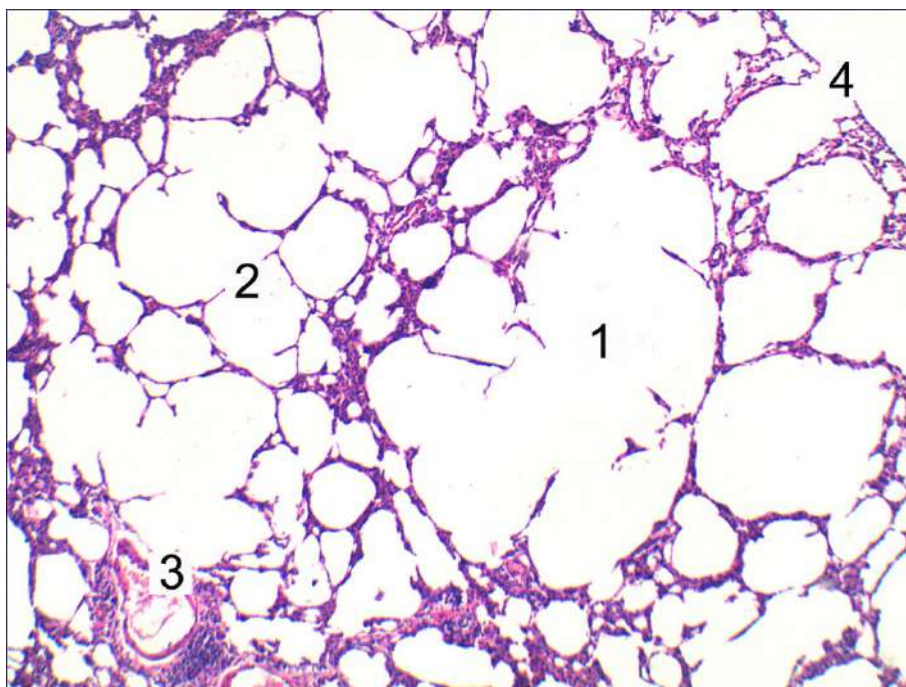


Рис. 4.7. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу гадюки степової. Емфізематозно змінені альвеоли (1) тонкі міжальвеолярні перегородки (2), деструктивно змінена судина (3), тонка плевра (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100

Морфометрично досліджено, що за умов впливу токсинів *Vipera berus* у легенях дослідних тварин відносні частки дис- та ателектазів,

емфізематозно змінених структур тканин легень достовірно зростали у 6,03; 7,15 та 2,0 рази ($p < 0,001$) відносно показників інтактної групи. Відповідно, прогресивно зменшується середнє значення тканин легень з незміненою гістоструктурою, що складає 0,31 відносно значення інтактної групи (див. табл. 4.2).

Альтерація стінок судин проявляється також діapedезами формених елементів в просвіті альвеол. Активация запальних процесів респіраторного відділу легень характеризується наявністю запальних локальних конгломератів макрофагів, лімфоцитів, нейтрофілів переважно в локусах ателектазів (рис. 4.8).

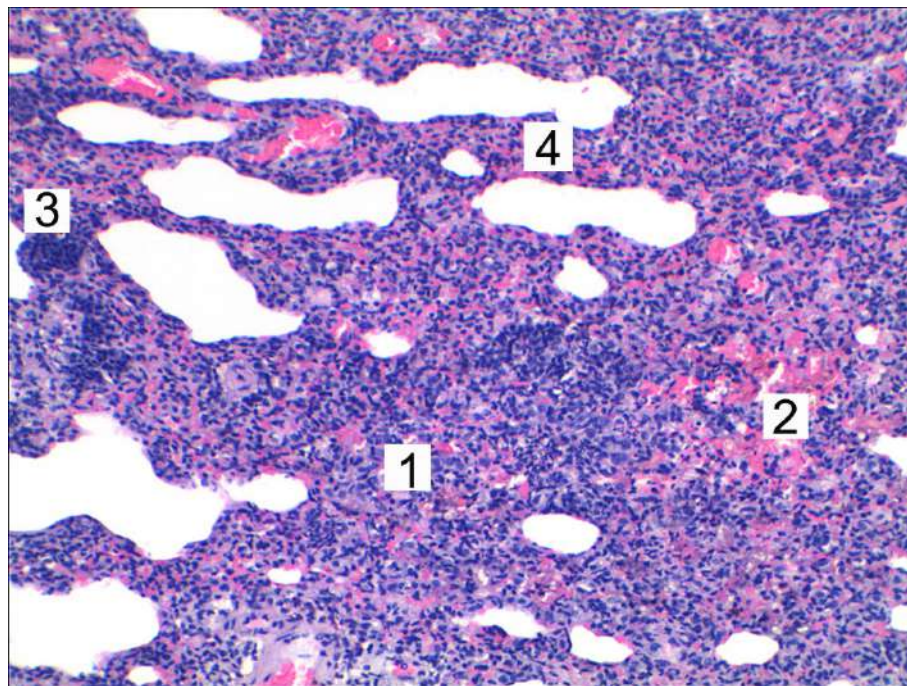


Рис. 4.8. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Зони ателектазів (1), діapedезні дифузні крововиливи (2), локальні лейкоцитарні інфільтрати (3), потовщені, інфільтровані стінки альвеол (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100

В ділянках крововиливів гістохімічно виявлено наявність макрофагів із яскраво “Хейл”-позитивними грудками гемосидерину, що є результатом патологічного накопичення та розпаду гемоглобіну еритроцитів (рис. 4.9).

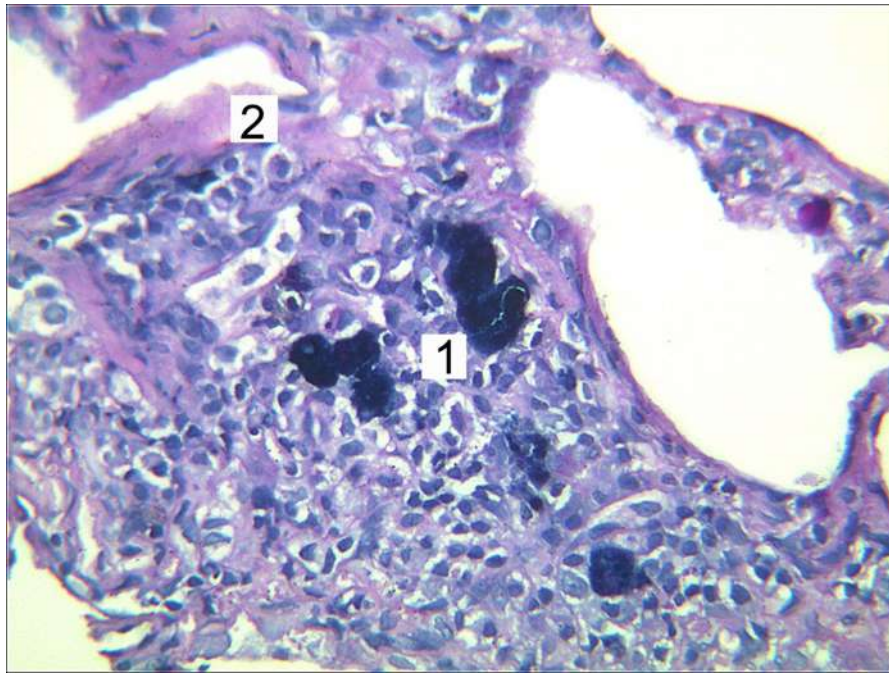


Рис. 4.9. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Макрофаги з скупченням яскраво “Хейл”-позитивних зерен гемосидерину в зонах ателектазів (1), помірно PAS-позитивні ретикулярні волокна строми (2). Забарвлення за методом Моурі. х 400.

Для бронхів характерне пошкодження стінки з альтерацією усіх оболонок. В більшості полів зору в паренхімі легень та переважно в стінці бронхів виявляються об’ємні запальні інфільтрати, в яких виявляються лімфоцити та макрофаги (рис. 4.10).



Рис. 4.10. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Альтерація стінки бронха (1) об'ємні запальні інфільтрати в стінці бронха (2), повнокровна вена (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

Токсичний вплив отрути *Vipera berus berus* призвів до появи в паренхімі легень скупчень пінистих макрофагів із чисельними включеннями в їх цитоплазмі дрібних ліпідних везикул, як прояв порушення стану сурфактанту в альвеолах та загального патологічного процесу при дії токсинів (рис. 4.11).

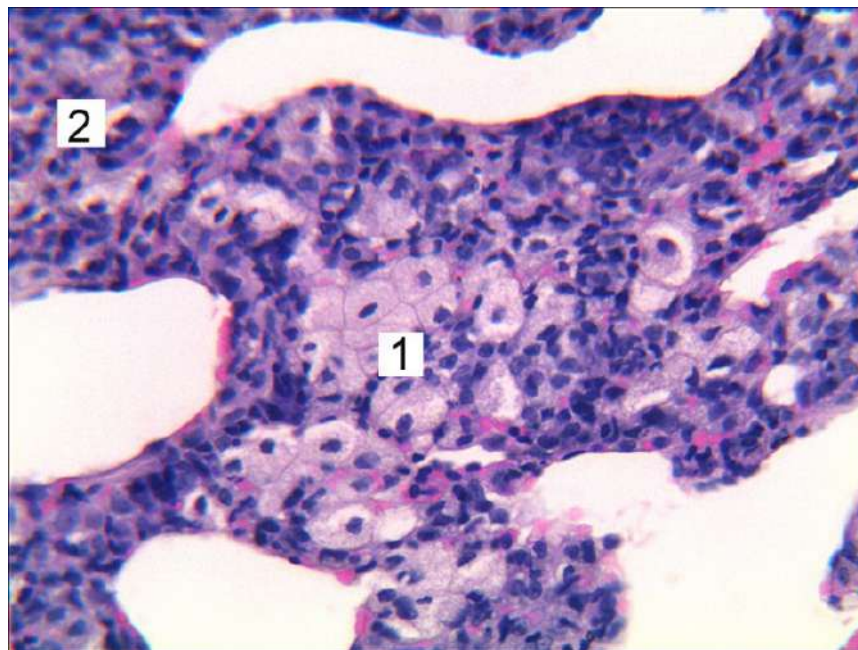


Рис. 4.11. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Пінисті макрофаги (1) потовщені міжальвеолярні перегородки (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200.

В частини легень спостерігається обструкція бронхів за рахунок бронхоспазму, не тільки дрібних бронхів, а й середнього діаметру. Війчастий епітелій слизової оболонки набряклий, фрагментований на багатьох ділянках десквамований в просвіт. В просвітах бронхів визначається серозно-слизовий вміст, із клітинним детритом, що володіє PAS позитивними властивостями (рис. 4.12).

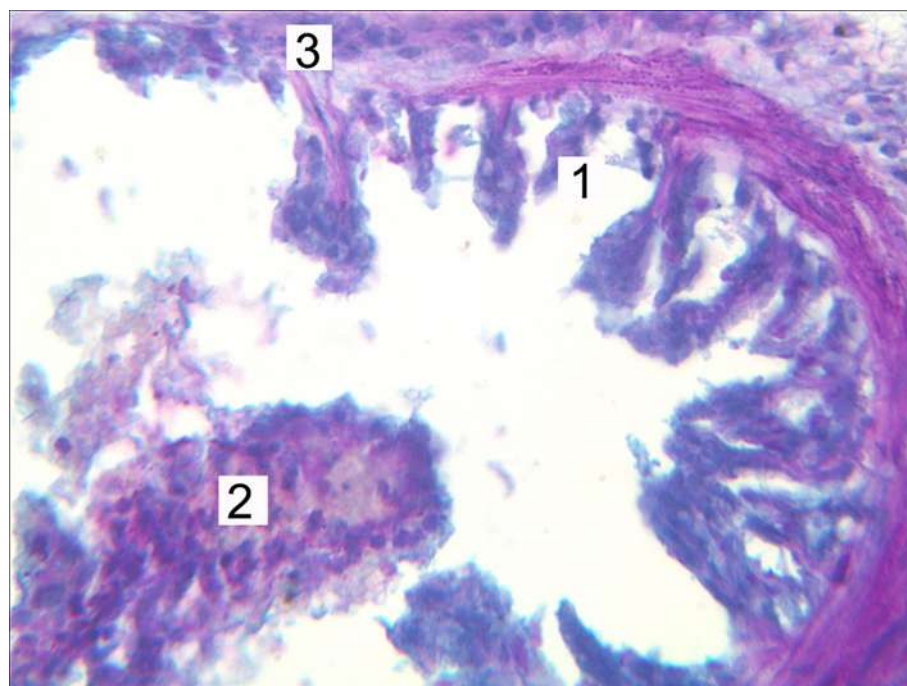


Рис. 4.12. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus berus*. Деструкція епітеліальної пластинки стінки (1), серозно-слизовий вміст в просвіті з помірно вираженими PAS- позитивними властивостями (2), альтерація медії (3). Забарвлення за методом Моурі. х 400.

Деструктивне пошкодження респіраторного епітелію виявляється в більшості полів спостереження, проте на деяких ділянках визначається відновлення епітеліальної пластинки за рахунок вставних клітин.

4.3. Морфологічна характеристика легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

Морфологічне вивчення легень білих щурів при впливі отрути *Vipera berus nikolskii*, показало, що вплив отрути призводить до значних альтеративних, дегенеративних та запальних змін бронхів, судин, строми та паренхіми органу. Внаслідок токсичного впливу отрути першочергового впливу зазнають безпосередньо судини легень, що проявляється ремоделюванням стінки, її потовщенням або локальним витонченням,

ерозивними і десквамативними процесами ендотелію, набряком та розволокненням адвентиції, зростанням площ запальних периваскулярних інфільтратів (рис. 4.13).

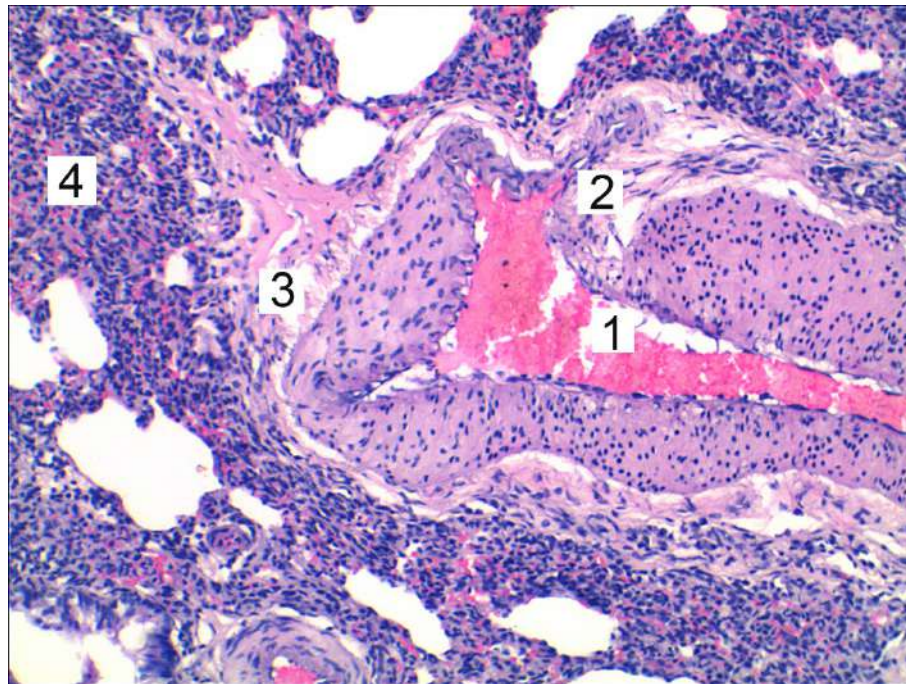


Рис. 4.13. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Повнокровний просвіт артерії з локальною десквамацією ендотелію (1) витончення та деформація медії (2), набряк адвентиції (3), лейкоцитарна інфільтрація респіраторного відділу (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200.

Токсичний вплив отрути *Vipera berus nikolskii* першочергово впливає на судинну стінку, призводячи до утворення набряків та перебудови волокнистих структур і аморфного компоненту переважно перибронхіальної та периваскулярної сполучної тканини. Гіпергідратація сполучної тканини при отруєнні токсинами гадюки призводить до зростання вмісту сульфатованих глікозаміногліканів з “Хейл”-позитивними властивостями та вмісту глікопротеїнів з PAS-позитивними властивостями (рис. 4.14).

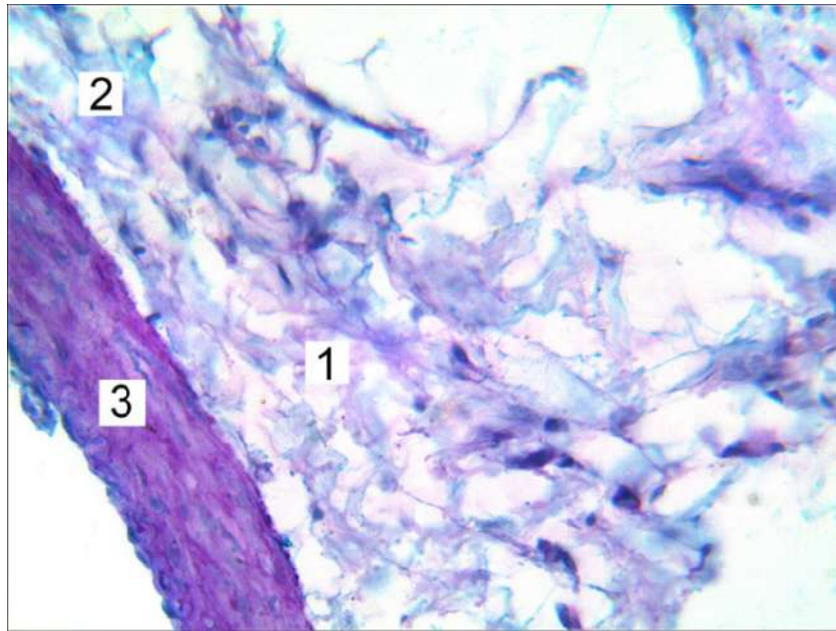


Рис. 4.14. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Колагенові волокна периваскулярної сполучної тканини з слабо вираженими PAS- позитивними властивостями (1), та яскраво вираженими “Хейл” позитивними властивостями глікозаміногліканів (2), гладкі міоцити медії артерії (3). Забарвлення за методом Моурі. х 400.

Гемотоксини отрути *Vipera berus nikolskii* спричиняють значні гемодинамічні розлади в легенях дослідних тварин, що характеризується повнокров'ям не тільки вен, а і артерій, тромбоутворенням, складжуванням еритроцитів. В легенях лабораторних тварин при дії отрути *Vipera berus nikolskii*, як і *Vipera berus berus* виявляються локуси екстраваскулярного нагромадження фібрину, що є проявом коагулопатій з перебігом ДВЗ синдрому (рис. 4.15).

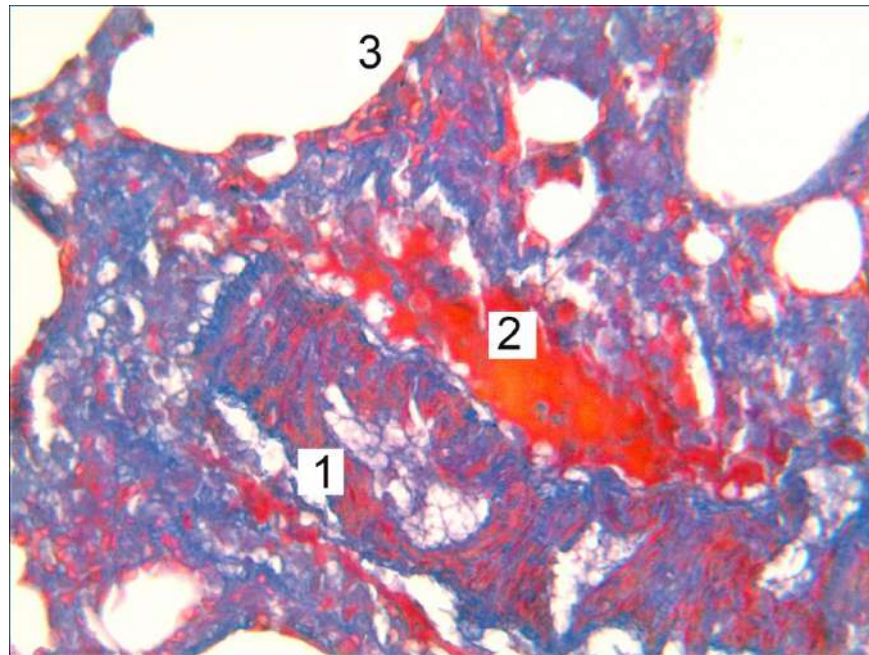


Рис. 4.15. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Деформована медія артерії (1), нагромадження фібрину в периваскулярному просторі (2), альвеоли респіраторного відділу (2). Забарвлення методом MSB (ОКГ). x 400.

Прямий вплив отрути *Vipera berus nikolskii* призвів до значних деструктивних, десквамативних та ерозивних змін епітелію бронхів в їх просвіті з оголенням базальної мембрани (рис. 4.15). Підвищена проникність стінок кровоносних судин та дегенеративно-запальні процеси стінок бронхів призводять до локальних та дифузних крововилівів, зокрема в просвіт бронха. Стінка бронхів значно деформована, витончена, дистонічна. Адвентиція деформована, визначається розволокнення і набряк аморфного компоненту міжклітинної речовини. В перибронхіальній сполучній тканині спостерігається інтенсивна дифузна гістолейкоцитарна інфільтрація або локальні, об'ємні лімфоцитарні конгломерати (рис. 4.16, рис. 4.17).



Рис. 4.16. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Десквамація епітелію в просвіт бронха з локусами ерозії (1) деформація стінки (2), гістолейкоцитарні інфільтрати перибронхіальної сполучної тканини (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200.

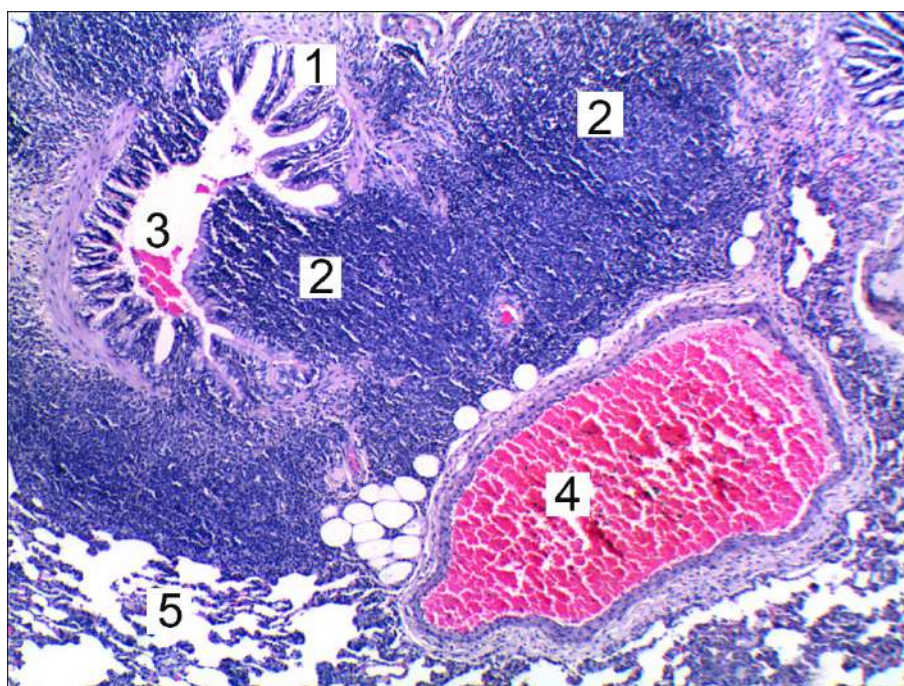


Рис. 4.17. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Деструктивно змінена стінка бронха (1) лімфоцитарні конгломерати в сінці бронха та перибронхіальній сполучній тканині (2), кров (3), кров (4), кров (5).

у просвіті бронха (3), кровонаповнена вена (4), фрагмент респіраторного відділу (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100.

Десквамативно-ерозивні процеси характерні для епітелію слизової оболонки більшості бронхів як великого так і середнього та дрібного діаметрів. Епітеліальна пластинка фрагментована, клітини деструктуризовані, келихоподібні клітини поодинокі, або виявляються в слизовому вмісті в просвіті бронха та володіють помірно вираженими PAS- позитивними властивостями. Базальні епітеліоцити поодинокі та забезпечують в повній мірі регенерацію епітеліальної пластинки слизової оболонки бронхів (рис. 4.18).

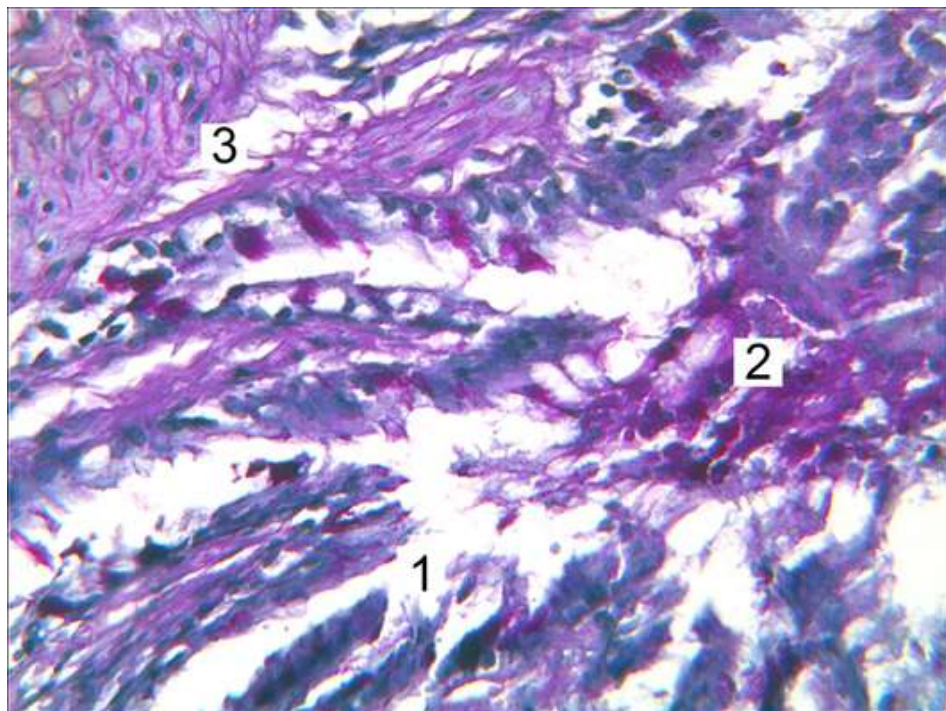


Рис. 4.18. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Деструкція і десвамація епітелію бронха середнього калібру (1), серозно-слизовий вміст в просвіті бронха з помірно вираженими PAS- позитивними властивостями (2), деструктивно змінена м'язова пластинка (3). Забарвлення за методом Моурі. x 400.

При морфометричному підрахунку встановлено достовірне збільшення середнього показника площі судин у 1,55 рази ($p < 0,001$), порівняно із значенням інтактної групи. Поряд із судинами, також зростали середні значення площ бронхів і лімфоїдної тканини відповідно у 2,49 та 2,58 рази ($p < 0,001$), у порівнянні із показниками інтактної групи. Тому, середнє значення респіраторного відділу достовірно знижується та складає 0,74 порівняно з інтактним показником (див. табл. 4.1).

Альтерація респіраторного відділу легень білих щурів внаслідок дії отрути *Vipera berus nikolskii* характеризується потовщенням стінок альвеол та формуванням значних площ дис- та ателектазів, які інтенсивно інфільтровані лімфоцитами та макрофагами. Підвищена проникність судинної стінки від впливу гемотоксинів, руйнування стінки судин призводять до локальних або обширних геморагій. Зростають площі крововиливів у респіраторному відділі легень порівняно із тваринами при дії отрути гадюки степової. Перифокально таких локусів крововиливів визначається скупчення лейкоцитів, макрофагів (рис. 4.19).

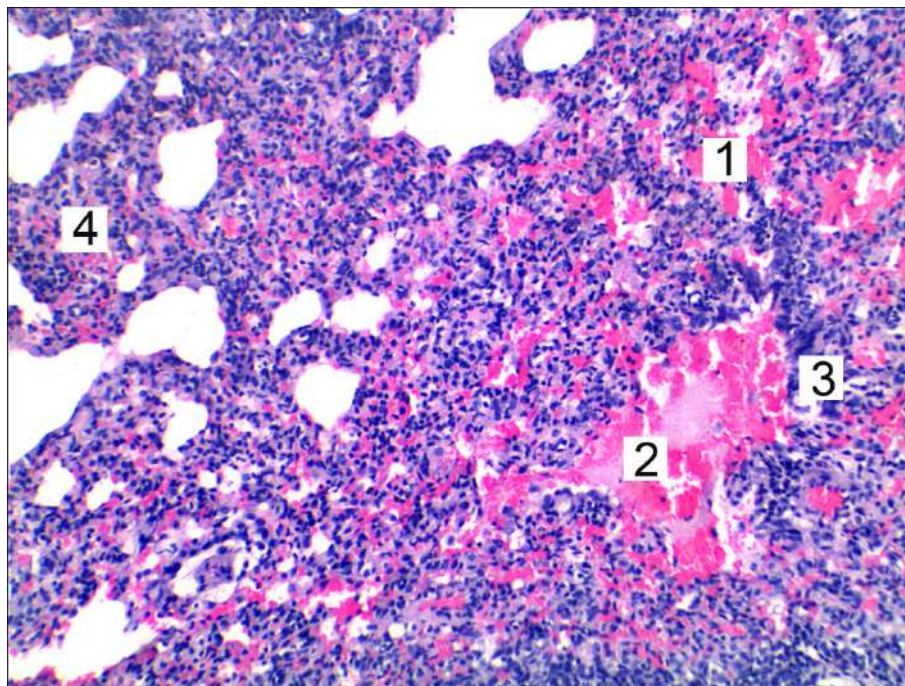


Рис. 4.19. Гістологічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Діапедезні дифузні крововиливи в зонах ателектазів (1),

локальний крововилив (2), перифокальні лейкоцитарні інфільтрати (3), потовщені, інфільтровані стінки альвеол (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200

Переважаю в сублевральних зонах респіраторний відділ легень змінений по емфізематозному типу, альвеоли перерозтягнуті, міжальвеолярні перегородки значно витончені, що не забезпечує нормальний перебіг газообміну (рис. 4.20).

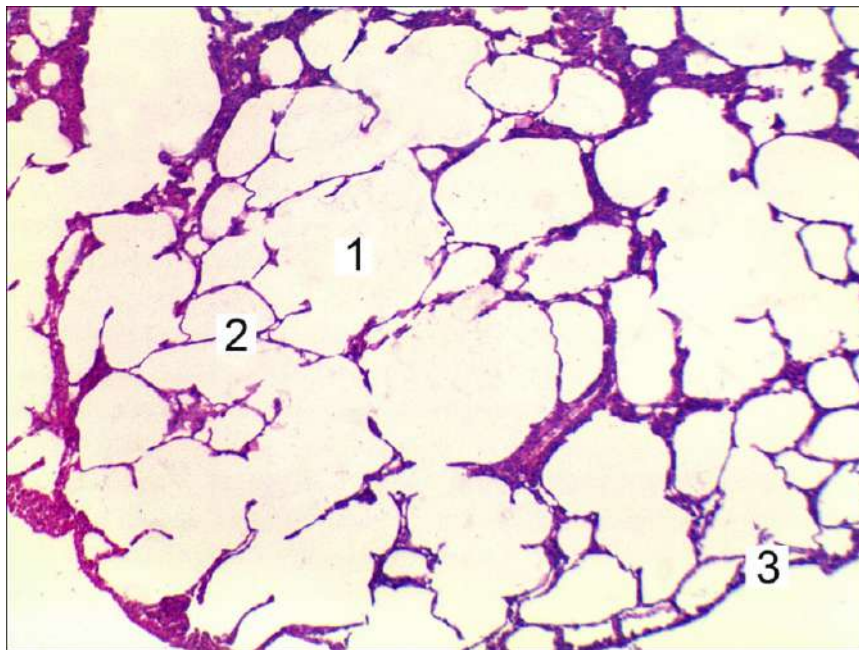


Рис. 4.20. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Емфізематозно змінені альвеоли (1) витончені міжальвеолярні перегородки (2), плевра (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100

В легенях піддослідних тварин в периваскулярній, перибронхіальній зонах, та переважно в зонах дис- та ателектазів респіраторного відділу визначається накопичення яскраво “Хейл”-позитивних макрофагів-гемосидерофагів, як прояв крововиливів та розпаду гемоглобіну (рис. 4.21).

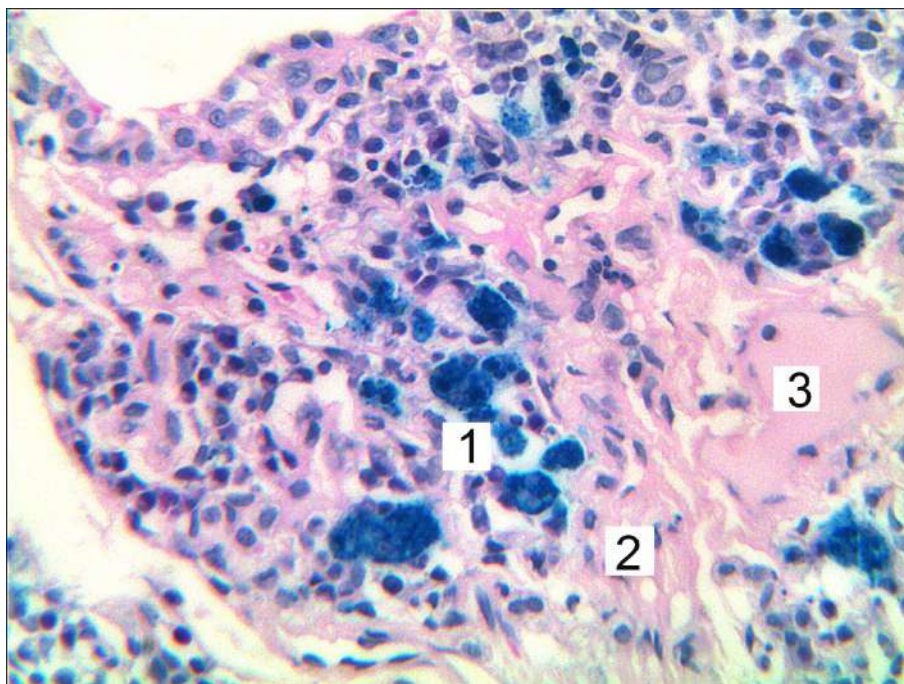


Рис. 4.21. Зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Макрофаги з скупченням яскраво “Хейл”-позитивних зерен гемосидерину в зонах ателектазів (1), яскраво PAS-позитивні ретикулярні волокна строми (2), вена малого калібру (3). Забарвлення за методом Моурі. х 400.

В паренхімі легень тварин за умов токсичного впливу отрути *Vipera berus nikolskii* спостерігається скупчення клітин макрофагальної системи – пінистих макрофагів, що містяться в просвіті альвеол або в ділянках гістолейкоцитарних інфільтратів, та є проявом патологічного нагромадження ліпідів в їх цитоплазмі (рис. 4.22).

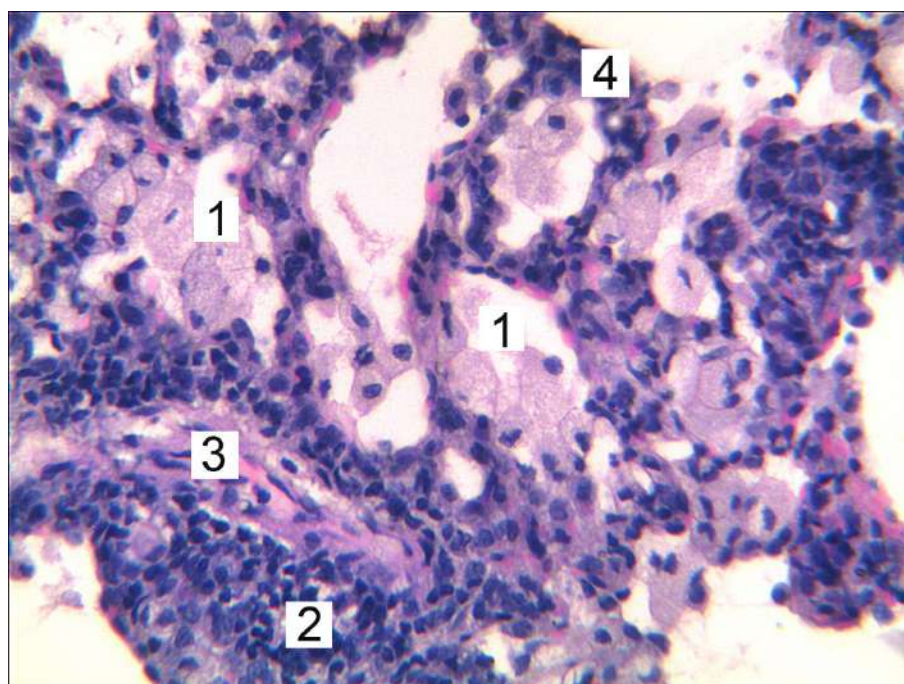


Рис. 4.22. Мікроскопічні зміни легені білого щура за умов впливу *Vipera berus nikolskii*. Пінисті макрофаги (1) лейкоцитарні перивазальні інфільтрати (2), вена (3). міжальвеолярні перегородки (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200

Морфометричний підрахунок показників респіраторного відділу легень білих щурів за умов впливу отрути *Vipera berus nikolskii* показав, що значення відносних площ дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої структури тканин легень достовірно збільшувалися у 6,64; 8,80 і 2,92 рази ($p < 0,001$) порівняно із значеннями інтактної групи. Тому, середнє значення тканин легень з незміненою гістоструктурою знижується і складає 0,11 порівняно із показником інтактної групи тварин (див. табл. 4.2).

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в трьох статтях у фахових журналах України [91, 93, 94] та одних тезах науково-практичної конференції [3].

РОЗДІЛ 5

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОТРУТИ ГАДЮК ВИДУ VIPERA BERUS

5.1 Електронно-мікроскопічна характеристика легень щурів контрольної групи тварин

Вивчення субмікроскопічного стану респіраторного відділу легень тварин контрольної групи підтвердило загальний принцип його ультраструктури. Основним компонентом є стінка альвеоли, що утворена тонкими прошарками пухкої стромальної сполучної тканини з добре розвиненими гемокапілярами мікроциркуляторного русла. Стінка альвеол вистелена епітеліоцитами I типу (респіраторними), II типу (секреторними), що лежать на базальній мембрані соматичного типу. Вільно в просвітах альвеол містяться альвеолярні макрофаги.

Основну площу епітеліального вистелення стінки альвеоли займають альвеолоцити I типу, головною особливістю ультраструктури яких є значні, тонкі цитоплазматичні вирости (вуалі), які містять чисельні мікропіноцитозні пухирці, вакуолі. В клітинах визначається округле ядро, в якому превалює еухроматин. В навколядерній зоні містяться помірно розвинені органели загального призначення: невеликі округлі мітохондрії, неширокі канальці ендоплазматичної сітки, цистерни, везикули та мікропухирці комплексу Гольджі. Люменальна поверхня клітин формує мікроворсинки для забезпечення процесу трансендотеліального обміну. Контактна зона ендотеліоцитів містить добре розвинені міжклітинні контакти, зокрема щільні замикальні контакти.

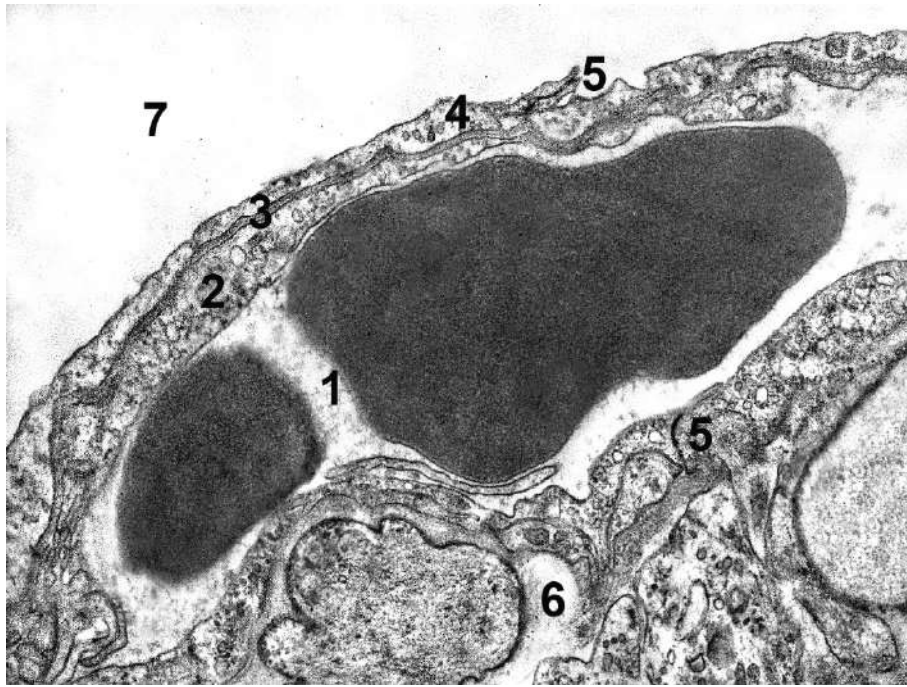


Рис.5.1. Ультраструктурний стан респіраторного відділу легені білого щура інтактної групи. Просвіт гемокapіляра з еритроцитами (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), базальна мембрана (3), цитоплазма альвеолоцита I типу (4), щільний замикальний контакт між епітеліоцитами I типу (5), стінка альвеоли (6), просвіт альвеоли (7). x 12 000.

У заглибленнях поміж сусідніми альвеолами та поміж респіраторними альвеолоцитами містяться секреторні епітеліоцити, які мають округлу форму, відносно велике округло-овальне, еухроматинове ядро, в якому часто визначаються ядерця, має добре виражені мембрани каріолеми, перинуклеарний простір вузький, нерозширений. В цитоплазмі виявляються добре розвинені канальці, цистерни, везикули та мікропухирці ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі. Помірно розвинені невеликі мітохондрії. Основною характерною особливістю ультраструктури цих клітин є наявність в цитоплазмі осміофільних пластинчастих (ламелярних) та мультивезикулярних тілець, вміст яких необхідний для формування та заміщення в просвіті альвеоли сурфактанту. На апікальній поверхні клітин містяться чисельні мікроворсинки для забезпечення вивільнення вмісту секреторних тілець в альвеолярний простір.

Важливим місцевим захисним компонентом респіраторного відділу легень є наявність в альвеолах альвеолярних макрофагів, що переважно містяться вільно в просвіті та подекуди прикріплюються до стінки альвеоли. Клітини містять відносно велике ядро, в якому переважає еухроматин, проте і визначаються об'ємні грудки гетерохроматину. В цитоплазмі добре розвинені органели загального призначення, зокрема невеликі мітохондрії з матриксом підвищеної осміофільності. Основною властивістю макрофагів є наявність в цитоплазмі електроннощільних первинних лізосом і вторинних фагосом. Плазмолема клітин утворює вип'ячування і інвагінації для сприяння процесу фагоцитозу (рис.5.2).

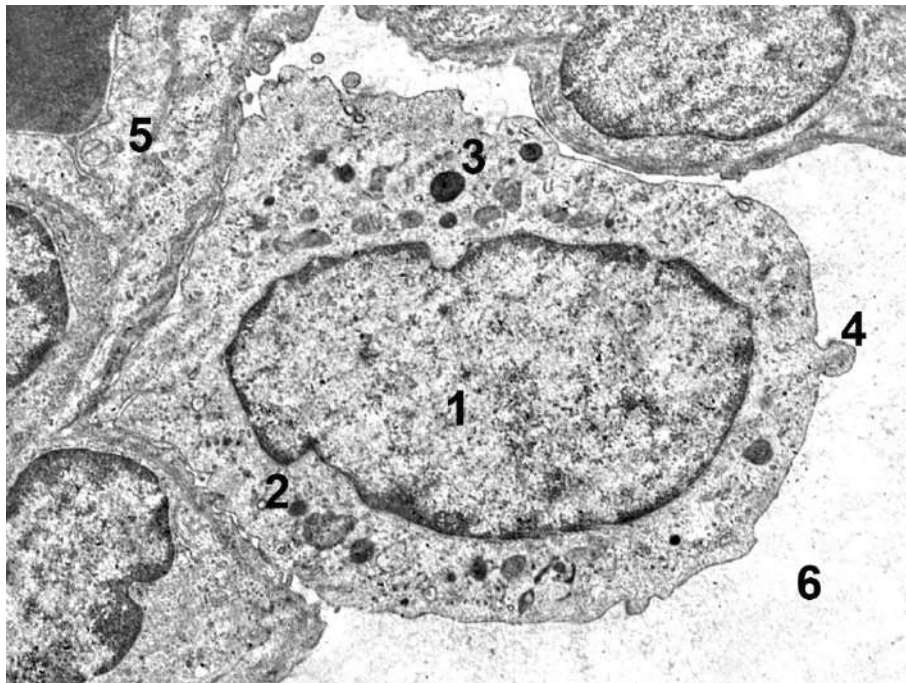


Рис.5.2. Субмікроскопічний стан респіраторного відділу легень білого щура інтактної групи. Ядро макрофага (1) первинні лізосоми (2), фагосома (3), виріст плазмолема (4), стінка альвеоли (5), просвіт альвеоли (6). x 8000.

5.2 Ультрамiкроскопічні зміни легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus berus*

Електронномікроскопічне вивчення респіраторного відділу легень тварин за умов дії отрути *Vipera berus berus* показало значні ультраструктурні зміни альвеолярної стінки, що зумовлені її прямим токсичним впливом. Цитоплазматичні, периферичні ділянки альвеолоцитів І типу та ендотеліоцитів були деструктуризовані, цілісність люменальних їх мембран порушена. На значних ділянках гомогенізована, з підвищеною електронною щільністю. Альвеолокапілярна базальна мембрана нечітка, гомогенізована, набрякла (рис. 5.3).



Рис. 5.3. Ультраструктурні зміни альвеолярної стінки респіраторного відділу легені білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Просвіт капіляра з деформованим (1) та гемолізованим еритроцитом (2), деструктуризований аерогематичний бар'єр (3), просвіт альвеоли (4), альвеолярна стінка (5). x 10 000.

Гемокапіляри переважно мали розширені, повнокровні просвіти із стазами та складками еритроцитів, часто виявлялися активовані нейтрофільні гранулоцити. Визначалися також капіляри із різко звуженими, щілиноподібними просвітами. Для ендотеліоцитів характерне невелике округло-овальне ядро, в якому часто визначалися інвагінації каріолеми, її

мембрани були переважно нечіткими, каріоплазма містила небагато еухроматину, маргінально визначався підвищеної осміюфільності гетерохроматин. Ядерця визначалися рідко, мали електроннощільну гомогенну структуру. В навколядерній зоні спостерігалися поодинокі мітохондрії із гомогенним, електроннощільним вмістом, фрагментованими кристами. Поодинокі каналці ендоплазматичної сітки були нечіткі, вузькі або непротяжні. В периферичних, вузьких цитоплазматичних ділянках визначаються поодинокі мікропіноцитозні міхурці і везикули. Люменальна поверхня плазмолемми часто нечітка, мікрворсинки визначаються рідко. Цілісність міжклітинних контактів в багатьох полях зору часто порушена. Базальна мембрана гемокапілярів, або спільна альвеолокапілярна базальна мембрана, на значних ділянках була набрякла, розпушена або гомогенна, підвищеної осміюфільії (рис. 5.4, рис. 5.5).

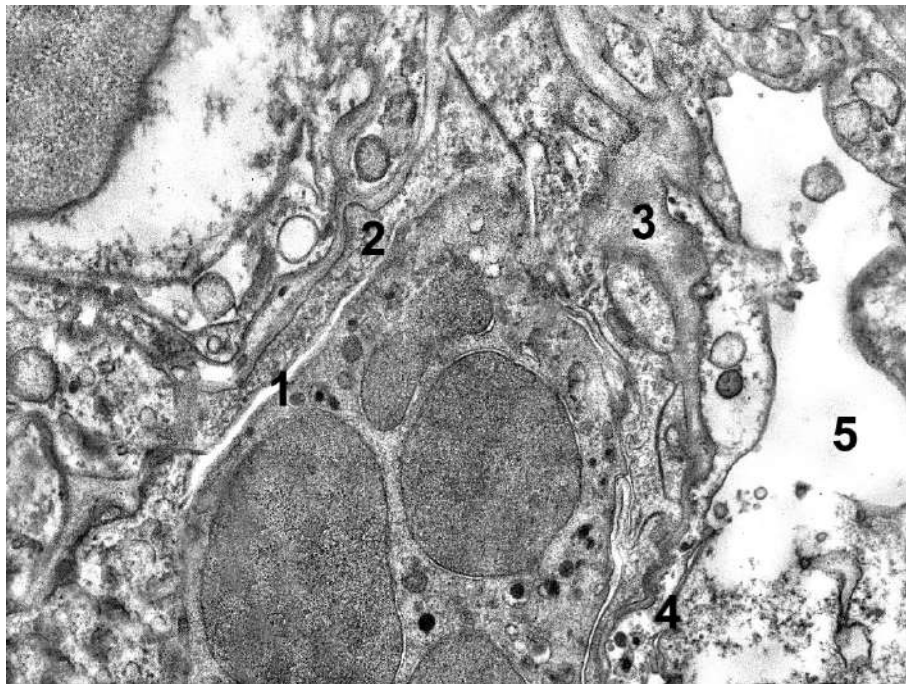


Рис. 5.4. Ультраструктурні зміни гемокапілярів респіраторного відділу легені білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Просвіт капіляра з нейтрофільним гранулоцитом (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), потовщена, набрякла базальна мембрана (3), альтерація альвеолоцита II типу (4), просвіт альвеоли з клітинним детритом (5). x 15 000.



Рис. 5.5. Субмікроскопічні зміни гемокапілярів респіраторного відділу легені білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Просвіт капіляра із складом еритроцитів (1), деструктуризований аерогематичний бар'єр (2), десквамація фрагмента альвеолоцита I типу в просвіт альвеоли (3), еритроцити і ретикулоцити в просвіті альвеоли (4). x 7 000.

Дослідження ультраструктури альвеолоцитів I типу показало значне їх порушення. Для них характерне велике, овальне гетерохроматинове ядро з нечіткими мембранами каріолеми, які часто формували інвагінації. Ядерця визначалися рідко. Органели були розвинені слабо, мали пошкоджену ультраструктуру, містилися в навколядерній ділянці. Визначалися вакуолізовані мітохондрії з електронносвітлим матриксом та нечіткими кристами. Канальці та цистерни ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі розширені, вакуолізовані, подекуди фрагментовані. Широкі цитоплазматичні ділянки в переважній більшості надмірно стоншені, гомогенні, часто підвищеної осміофілії, з поодинокими мікропіноцитозними міхурцями. Рідко виявляються локально набряклі ділянки. Мембрани плазмалеми на деяких ділянках деструктуризовані, нечіткі (рис. 5.6). Стінка альвеоли потовщена переважно за рахунок набряку та активації клітин фібробластичного ряду.

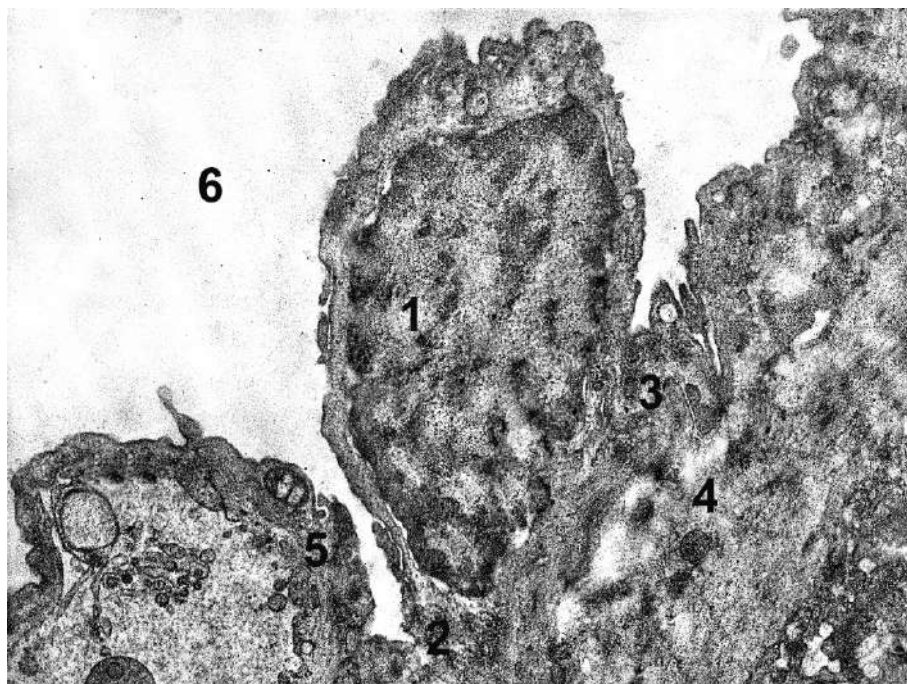


Рис. 5.6. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита I типу респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро (1) і цитоплазма епітеліоцита I типу (2), гомогенна, розпушена базальна мембрана (3), потовщена, набрякла стінка альвеоли (4), альтеративно змінений аерогематичний бар'єр (5), просвіт альвеоли (6). x 12 000.

Ультраструктурний стан альвеолоцитів II типу також був значно змінений, та характеризувався порушенням цитоплазми та ядра клітин. В гіалоплазмі органели загального призначення були деструктуризовані. Більшість мембранних органел синтетичного апарату вакуолізовані, з пошкодженням їх мембран. Визначалось багато об'ємних вакуоль в цитоплазмі клітин. Виявлялися деформовані пластинчасті тільця, осміофільний вміст яких був фрагментований або гомогенний. Мультивезикулярні тільця нечисельні, невеликі відносно підвищеної осміофільності. На апікальній поверхні клітин плазмолема формувала поодинокі, невисокі мікроворсинки. Ядра клітин відносно великі, округлі, рідше з інвагінаціями каріолеми, ядерні пори погано контурувались. В каріоплазмі містився переважно еухроматин, ядерце було невелике, осміофільне (рис. 5.7).

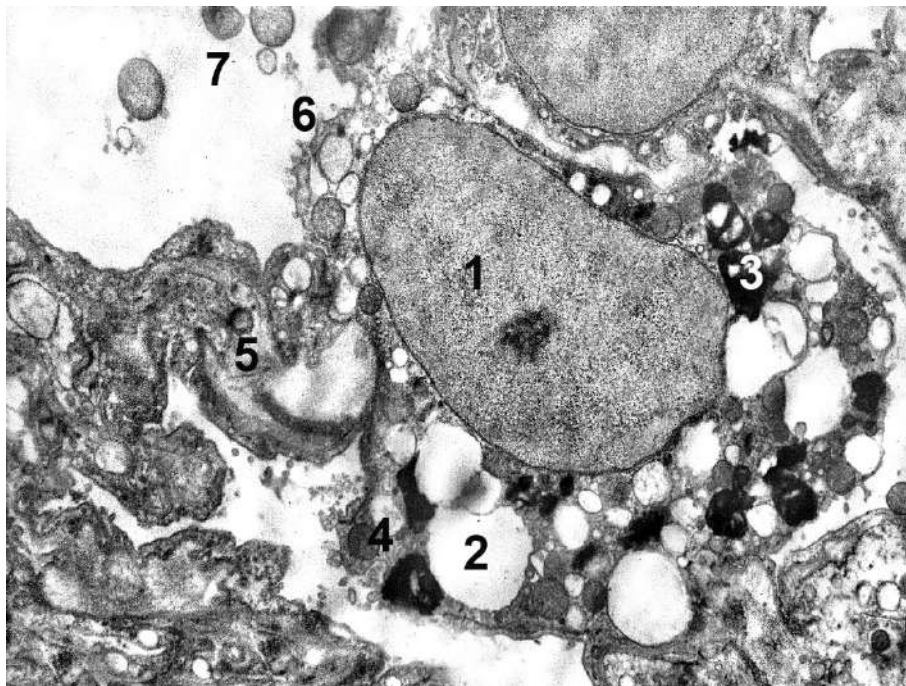


Рис. 5.7. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро з ядерцем (1), електронносвітлі вакуолярні порожнини (2), осміофільні, деструктуризовані пластинчасті тільця (3), мультивезикулярні тільця (4), набрякла базальна мембрана (5), невисокі, деструктуризовані мікрроворсинки (6), просвіт альвеоли (7). x 9 000.

Визначалися альвеолоцити II типу, які містили в цитоплазмі поряд із сформованими секреторними ламелярними тільцями незрілі або спустошені вакуолізовані та великі краплі нейтрального жиру як прояв забезпечення відновлення процесу секреції пластинчастих тілець. Також, про напруження секреторного процесу ламелярних тілець свідчить їх злиття у великі вакуолі із осміофільним вмістом всередині (рис. 5.8).

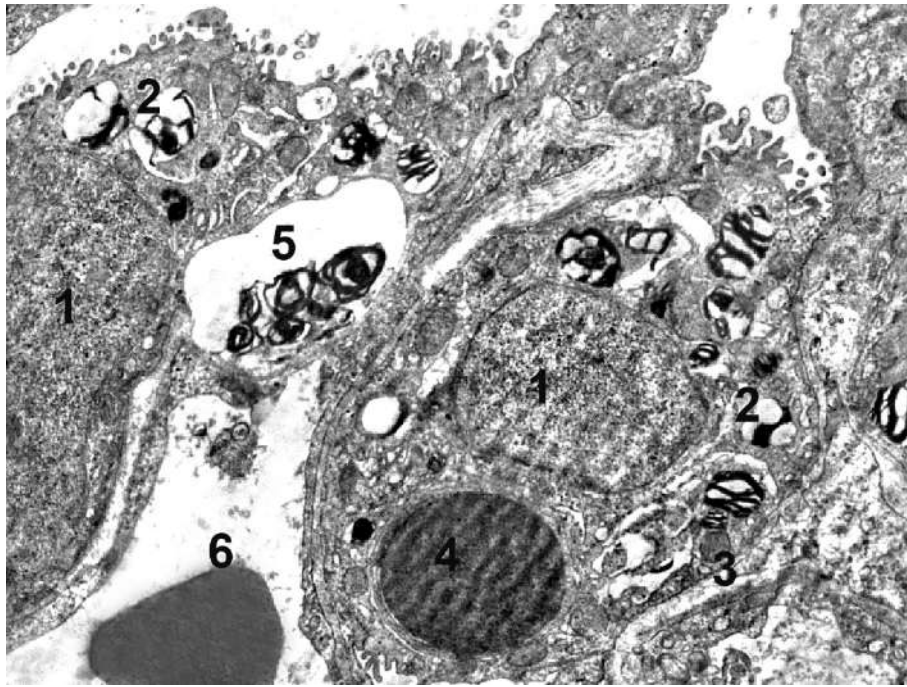


Рис. 5.8. Субмікроскопічні зміни альвеолоцитів II типу респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро (1), осміюфільні, деформовані пластинчасті тільця (2), мультивезикулярні тільця (3), крапля нейтрального жиру (4), велика вакуоля з осміюфільним вмістом (5), просвіт альвеоли з еритроцитом (6). x 6 000.

Внаслідок порушення цілісності ендотелію та його проникності, в просвітах альвеол виявлялися активовані нейтрофільні гранулоцити (юні нейтрофіли) як прояв місцевої захисної запальної реакції. Вони містили бобоподібне ядро, з рівними контурами мембран каріолеми і дрібнодисперсним хроматином в каріоплазмі. Цитоплазма включала помірно розширені, непротяжні каналці ендоплазматичної сітки, невеликі мітохондрії з нечіткими кристами та чисельні, невеликі, осміюфільні секреторні гранули, різної електронної щільності. Плазмолема рідко формувала випячування (рис. 5.9).

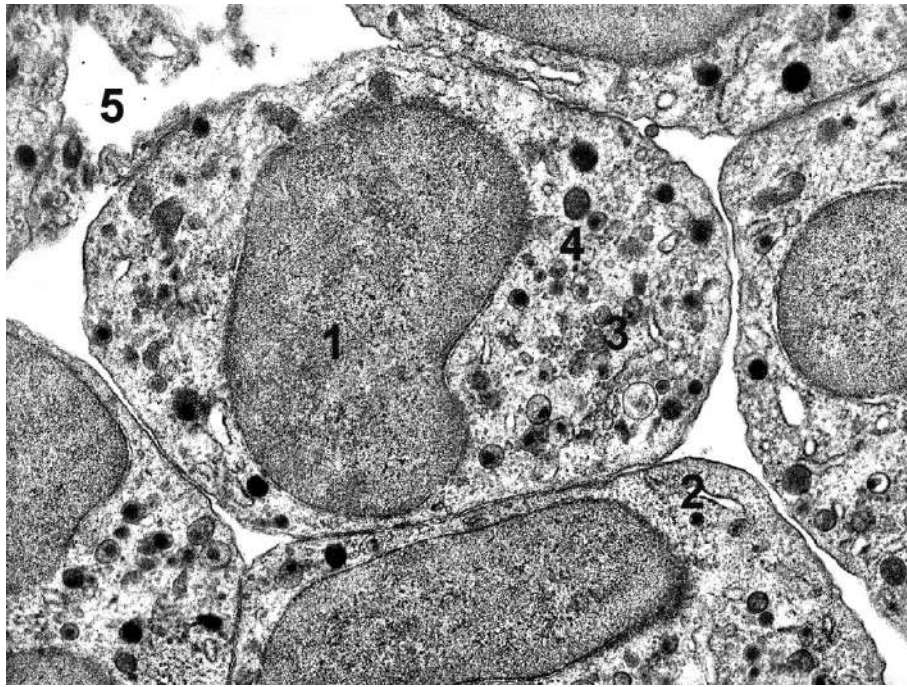


Рис. 5.9. Ультраструктурні зміни стінки альвеоли білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро нейтрофільного гранулоцита (1), канальці ендоплазматичної сітки (2), невеликі мітохондрії (3), секреторні гранули (4), просвіт альвеоли (5). x 10 000.

За дії отрути гадюки степової в просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів як прояв захисної реакції. Часто вони були фіксовані до стінки альвеоли. В їх популяції переважають фагоцитуючі клітини, для них характерне округло-овальне або неправильної форми велике, гетерохроматинове ядро, часто з глибокими інвагінаціями (рис 5.10).

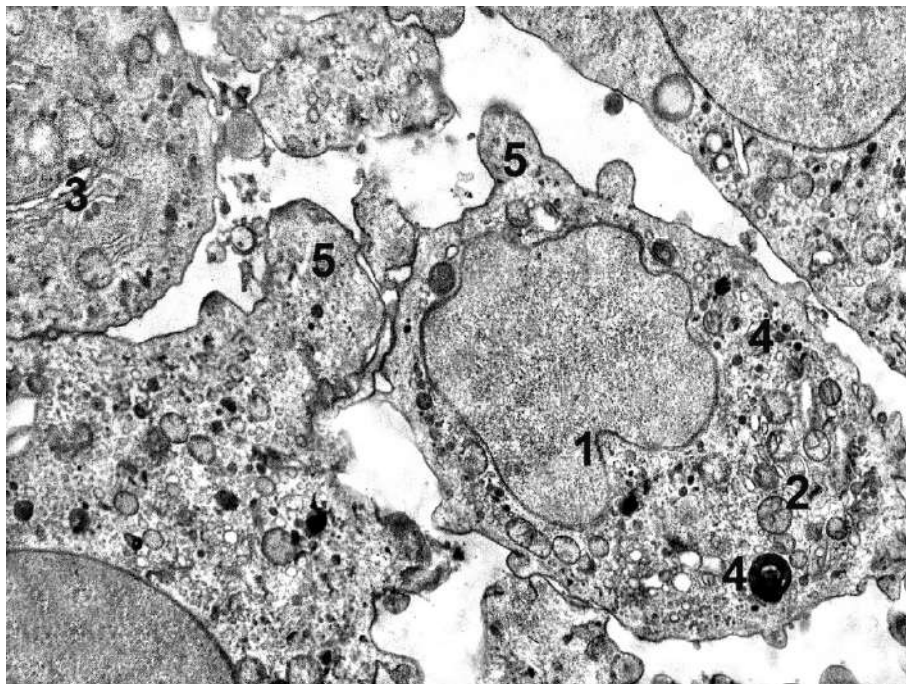


Рис. 5.10. Ультраструктурні зміни альвеолярних макрофагів респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро з інвагінаціями каріолеми (1), мітохондрії (2), каналці ендоплазматичної сітки (3), первинні лізосоми (4), вторинні фагосоми (5), вирости плазмолеми (6). x 7 000.

В цитоплазмі виявляються осміюфільні невеликі первинні лізосоми та вторинні - із фагоцитованим вмістом. Органели загального призначення розвинені помірно, часто деструктуризовані. Клітини формують об'ємні цитоплазматичні утвори для забезпечення гетерофагоцитозу. Проте, також наявні в просвіті альвеол альтеративно змінені і молоді макрофаги для забезпечення місцевих захисних реакцій в респіраторному відділі легень (рис. 5.11).

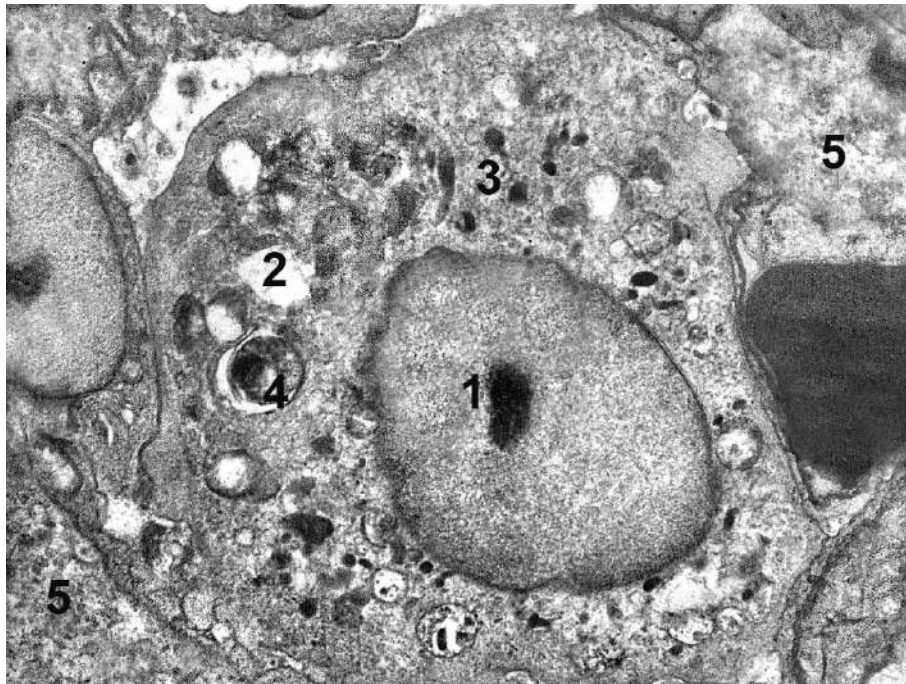


Рис. 5.11. Ультраструктурні зміни альвеолярних макрофагів респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus berus*. Ядро з ядерцем (1), вакуолі (2), первинні лізосоми (3), вторинні фагосоми (4), стінка альвеоли (5). x 9 000.

5.3 Ультрамiкроскопічні зміни легень щурів експериментальної групи з введенням отрути *Vipera berus nikolskii*

Електронномікроскопічне вивчення респіраторного відділу легень щурів, яким вводили отруту *Vipera berus nikolskii*, показало подібну тенденцію деструктивно-дегенеративних змін компонентів альвеол як в попередній дослідній групі, проте ступінь їх альтерації був більш значним. Первинно токсичний вплив отрути гадюки чинив пряме пошкодження стінки гемокапілярів із сладжами, стазами, тромбами та геморагіями, як прояв ДВЗ-синдрому (рис. 5.12). Ендотеліальні клітини містили ущільнені невеликі округлі або видовжені ядра, в яких переважав гетерохроматин, що був розсіяний по всій площі клітини та переважав біля внутрішньої мембрани каріолеми, яка містила глибокі інвагінації, локально був розширений

перинуклеарний простір, на інших ділянках каріолема електроннощільна, із невираженим перинуклеарним простором, ядерні пори поодинокі. В парануклеарній зоні містилися поодинокі органели, які були деструктуризовані.

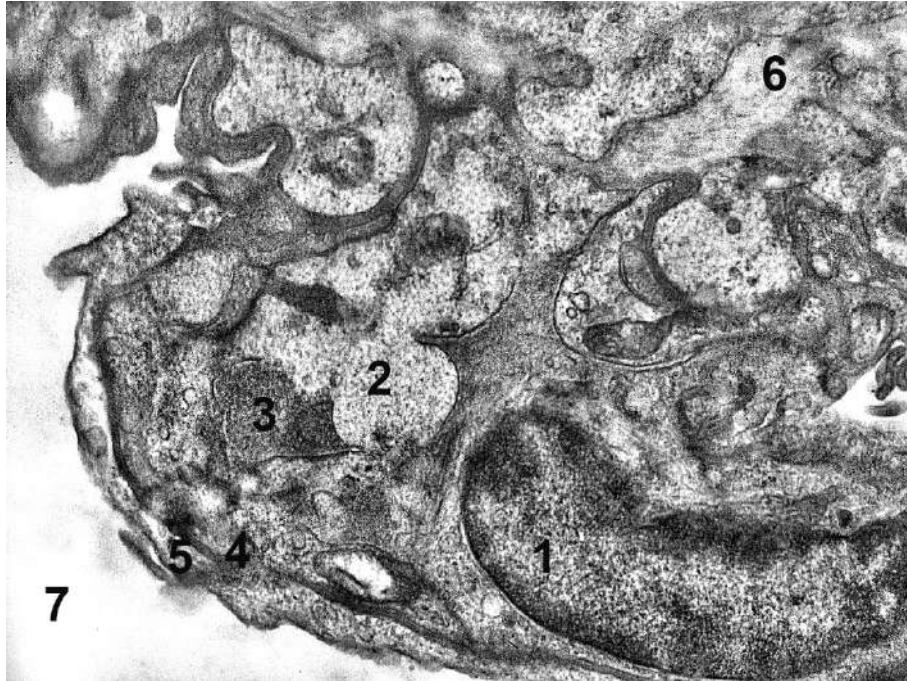


Рис. 5.12. Ультраструктурні зміни стінки альвеоли білого щура за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Ядро ендотеліоцита (1), набрякла цитоплазма ендотеліоцита (2), просвіт капіляра (3), деструктуризована базальна мембрана (4), цитоплазма епітеліоцита I типу (5), стінка альвеоли (6), просвіт альвеоли (7). x 12 000.

Мітохондрії вакуолізовані, із електронносвітлим матриксом та редукованими кристами. Цистерни і каналці ендоплазматичної сітки непростяжні вузькі або розширені, часто з фрагментованими мембранами. В периферичних, тонких цитоплазматичних ділянках виявлялися поодинокі вакуолі, мікропіноцитозні міхурці. Локально цитоплазма клітин була набрякла, просвітлена. Люменальна поверхня клітин втрачала свою цілісність, мікроворсинки були фрагментовані, поодинокі. Міжклітинні контакти часто втрачали свою структурованість. Значних змін

ультраструктури зазнавала альвеолокапілярна базальна мембрана, яка на значних площах була гомогенна, набрякла, розпушена (рис. 5.13).

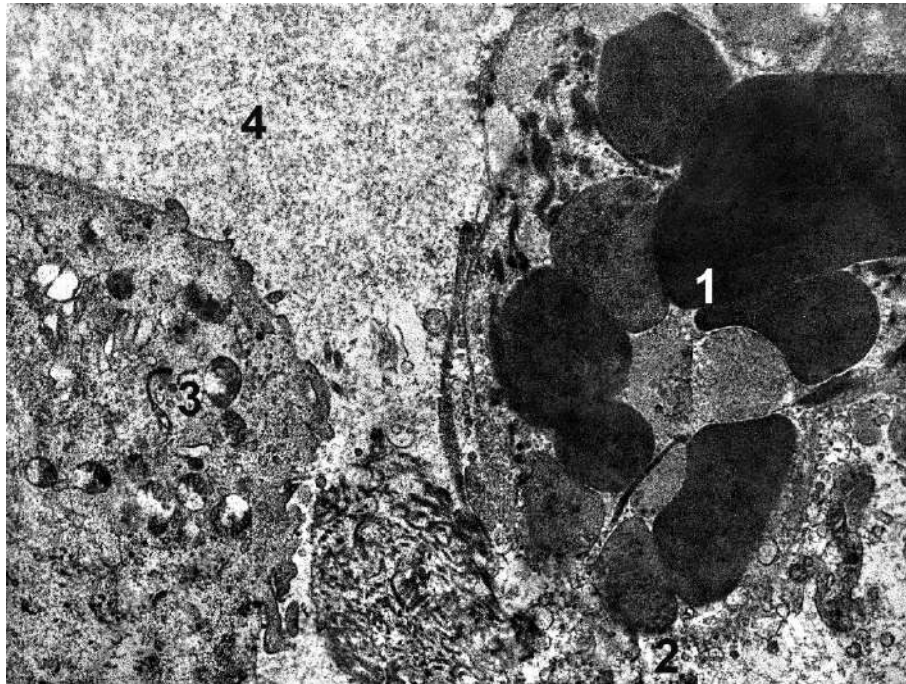


Рис. 5.13. Ультраструктурні зміни стінки альвеоли білого щура за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Стаз еритроцитів в просвіті капіляра з формуванням еритроцитарного тромбу (1), деструкція та локальне руйнування аерогематичного бар'єру (2), фрагмент альвеолярного макрофага (3), просвіт альвеоли із згустками фібрину (4). x 8 000.

Пошкодження стінки альвеол, накопичення в їх просвіті клітинного детриту, фібрину та формених елементів крові спричинило запальну реакцію з нагромадженням в просвіті альвеол нейтрофільних гранулоцитів. Серед їх популяції визначалися чисельні юні, паличкоядерні та сегментоядерні форми лейкоцитів, попри те вони були альтеративно змінені. Часто визначається їх адгезія до стінки альвеоли. Плазмолема була нечіткою, фрагментованою, гранули в цитоплазмі нечисельні, визначається їх дегрануляція, спостерігаються вакуолеподібні структури. В ядерних фрагментах переважає гетерохроматин, ядерні мембрани нечіткі (рис. 5.14).

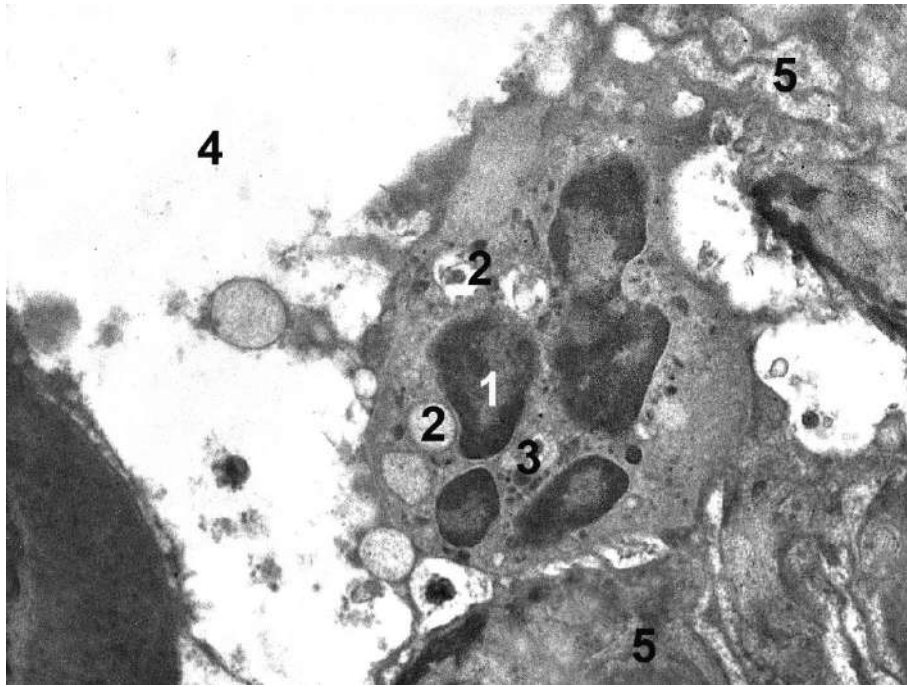


Рис. 5.14. Субмікроскопічні зміни стінки альвеоли білого щура за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Фрагменти ядра нейтрофільного гранулоцита (1), вакуолі (2), секреторні гранули (3), просвіт альвеоли (4), стінка альвеоли (5). x 10 000.

Респіраторні епітеліоцити, що вистеляють на більшому протязі стінку альвеол, зонально втрачали цілісність плазмолеми. Також визначались значні площі цитоплазматичних ділянок клітин, які були значно витончені, електроннощільні без наявності мікропіноцитозних міхурців. На значних ділянках спостерігається локальний набряк та просвітлення цитоплазми клітин із утворенням вітрилоподібних вип'ячувань у просвіт альвеоли (рис. 5.15). Незначні цитоплазматичні ділянки були з незміненою гістоструктурою. Ядра клітин були невеликі, округлі або видовжені. Органели переважно деструктуризовані, мембранні – вакуолізовані.

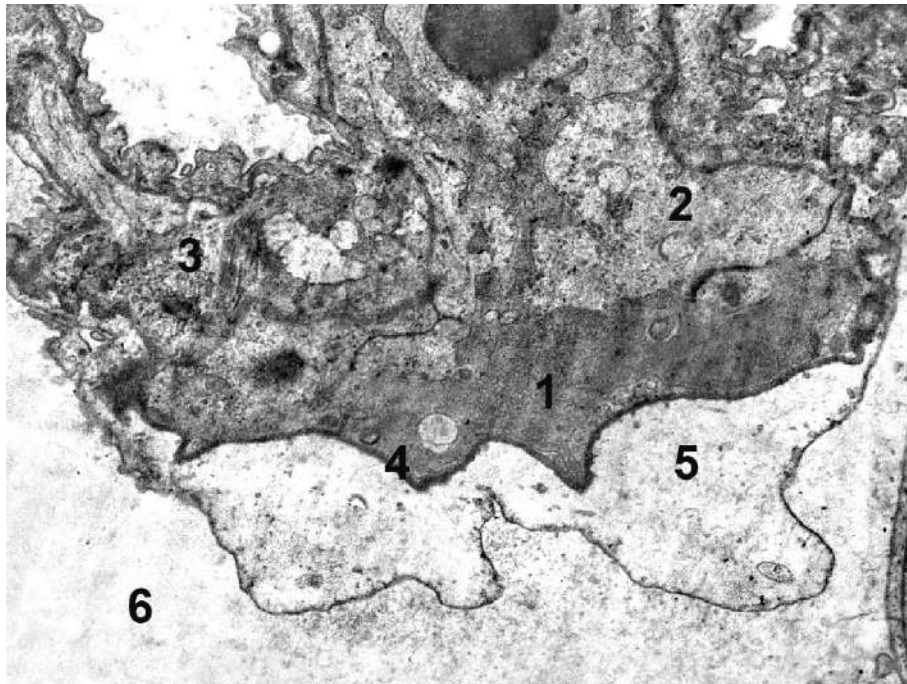


Рис. 5.15. Субмікроскопічні зміни стінки альвеоли білого щура за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Просвіт капіляра (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), стінка альвеоли (3), базальна мембрана (4), вітрилоподібні вип'ячування (5), просвіт альвеоли (6). x 10 000.

Субмікроскопічна організація секреторних альвеолоцитів за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* характеризувалася зменшенням числа секреторних, ламелярних тілець в їх цитоплазмі, вони були великі вакуолізовані із невисоким секреторним вмістом. Поодинокі визначалися щільні мультивезикулярні тільця. Цистерни, каналці, вакуолі і міхурці ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі добре виражені, проте деструктуризовані, переважно вакуолізовані, з фрагментованими мембранами. Мітохондрії енергетичного апарату невеликі, переважно із електроннощільним матриксом та нечіткими кристами. Ядра округло-овальні, часто із інвагінаціями каріолеми. В каріоплазмі містився в значній мірі маргінальний гетерохроматин, невеликий вміст еухроматину. Перинуклеарний простір погано контурнувався, локально був розширений. Мікрроворсинки апікальної частини клітини, що забезпечують екзоцитоз

вмісту ламелярних і мультивезикулярних секреторних тілець, погано виражені, поодинокі (рис. 5.16).

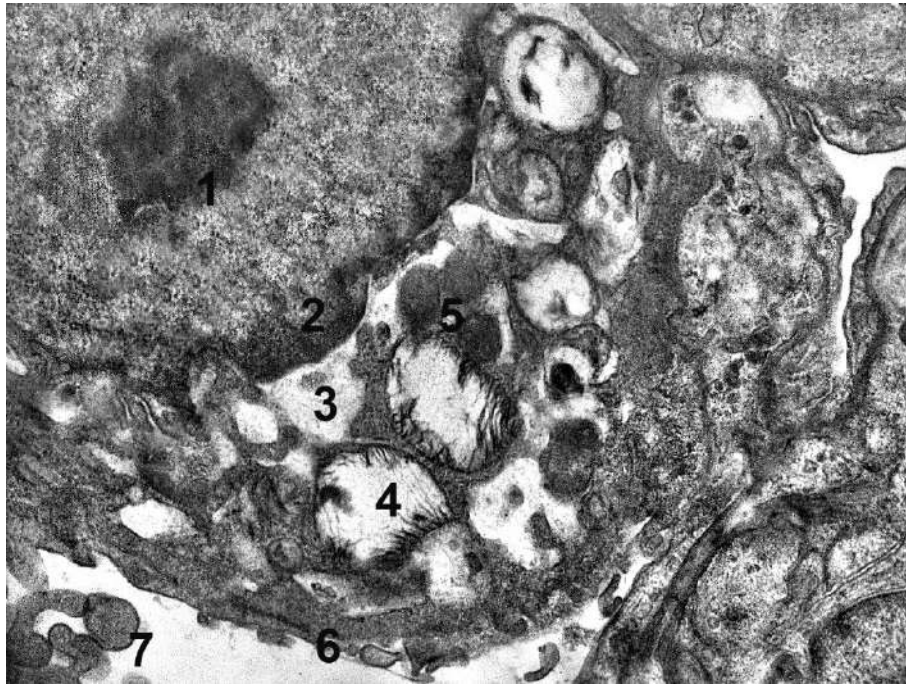


Рис. 5.16. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень білих щурів за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Ядро з ядерцем (1), маргінальний гетерохроматин (2), розширені, вакуолізовані канальці ендоплазматичної сітки (3), пластинчасті тільця із фрагментованим осміюфільним вмістом (4), деструктуризовані мультивезикулярні тільця (5), редукція мікроборсинок на апікальній поверхні клітини (6). x 15 000.

Як прояв захисних, імунних процесів, в просвіті альвеол за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* на респіраторний відділ легень щурів свідчить наявність в інтерстиції плазмоцитів, які містили округле, гетерохроматинове ядро з невеликим ядерцем, цитоплазма містила добре розвинені канальці гранулярної ендоплазматичної сітки, невеликі осміюфільні мітохондрії з нечітко контурованими кристами (рис. 5.17).

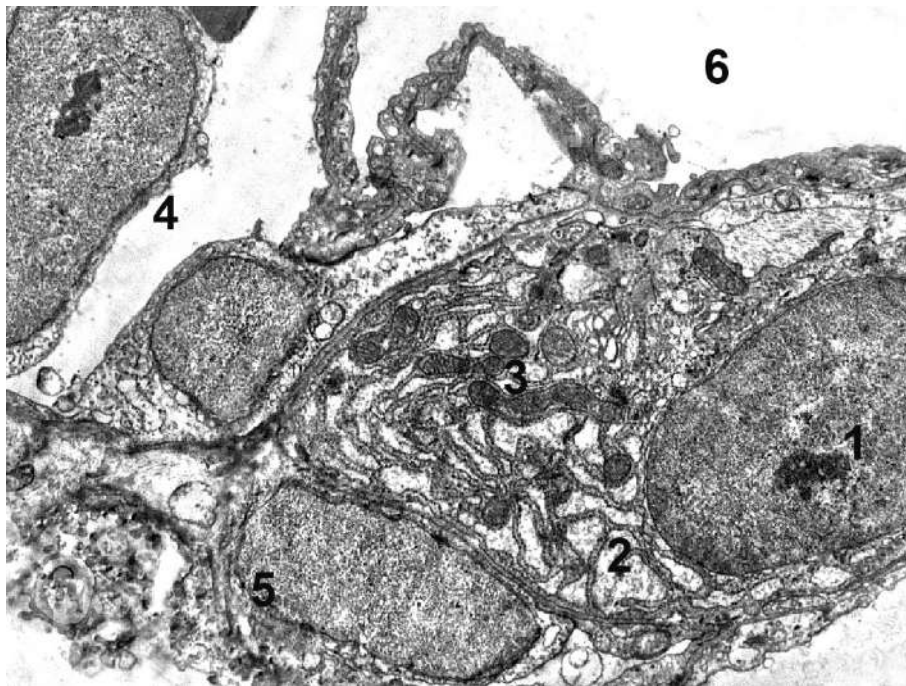


Рис. 5.17. Ультраструктурний стан респіраторного відділу легень білих щурів за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Ядро з ядерцем плазмоцита (1), розширені каналці ендоплазматичної сітки (2), мітохондрії (3), просвіт капіляра з ендотеліоцитами (4), стінка альвеоли (5), просвіт альвеоли (6). x 10 000.

Також в альвеолах визначалася значна кількість альвеолярних макрофагів, що були рідко фіксовані до стінки, переважно вільно розміщені в просвіті альвеол. Серед генерації клітин переважали деструктивно змінені та активно фагоцитуючі макрофаги. В таких клітинах ядро було деформоване, підвищеної осміофільності. Каріолема з нечіткими мембранами та поодинокими ядерними порами. В цитоплазмі помірно виражені органели, які деструктуризовані і вакуолізовані, в найбільшій мірі мітохондрії та каналці і цистерни комплексу Гольджі. Для ефективного забезпечення процесу фагоцитозу містяться первинні невеликі лізосоми та вторинні, з вмістом підвищеної осміофільності, фагосоми. Плазмолема формує на деяких ділянках значні, об'ємні вип'ячування (рис. 5.18).

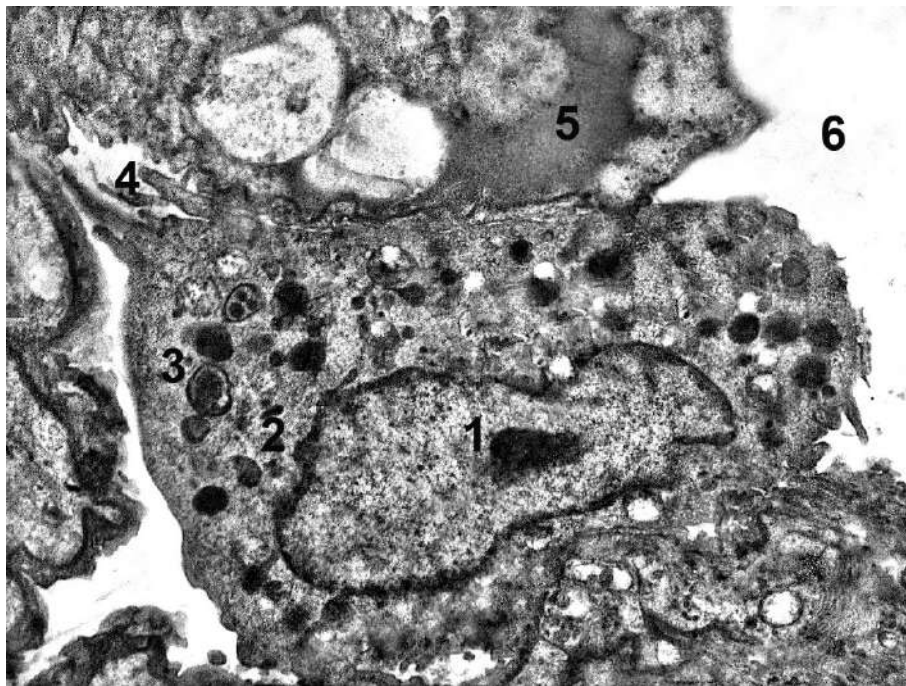


Рис. 5.18. Ультраструктурний стан альвеолярного макрофага респіраторного відділу легень білого щура за умов введення отрути *Vipera berus nikolskii*. Вип'ячування плазмолем (1), ядро (2), мітохондрії (3), лізосоми (4), фагосоми (5). x 9 000.

Таким чином, результати проведених електронномікроскопічних досліджень респіраторного відділу легень дослідних тварин при введенні отрут *Vipera berus berus* та *Vipera berus nikolskii* показали значні пошкодження ультраструктури альвеолярної стінки, альвеолоцитів I та II типів, ендотеліоцитів, альвеолярних макрофагів. Ініціальним в цьому патологічному процесі був прямий токсичний вплив отрути на стінку гемокапілярів з формуванням стазів, складжів, тромбів і геморагій в просвіт альвеоли. Порівнюючи дві експериментальні групи встановлено, що отрута *Vipera berus nikolskii* порівняно із отрутою гадюки степової чинить більш виражений деструктивно-дегенеративний вплив на ультраструктуру стінки альвеоли дослідних тварин.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті у фаховому журналі України [92].

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вплив отрути змій є небезпечним для життя станом, який може викликати патологічні зміни в організмі жертви і навіть призвести до смерті. Гадюка європейська (*Vipera berus*) широко поширена в Європі та є найпоширенішим видом гадюк у всьому світі [134]. Отрута цих істот складається з суміші молекул, в основному ферментів, пептидів і неферментативних протеїнів. Ферменти відповідальні за більшість шкідливих руйнівних впливів на органи і тканини організму, що зазнав дії отрути. Кілька протеомних досліджень показали, що отрута *Vipera berus* містить фосфоліпази A2, серинові протеази, що можуть спричинити набряк легень [54], однак задокументованих випадків легеневої недостатності після укусу *Vipera berus* небагато — лише поодинокі випадки набряку легень і легеневої емболії [134, 20, 65]. Тим не менш, молекулярні процеси в легенях під час отруєння залишаються невивченими.

Окремі комплексні дослідження виявляють відмінні особливості бронхолегеневих ускладнень внаслідок укусів різних видів змій. У своїх експериментальних дослідженнях Ferrara A. L. та його колеги [47] виявили, що секреторний фермент PLA2 в отруті *Naja mossambica mossambica* викликає запальну реакцію в легенях шляхом активації макрофагів. Відомо, що PLA2 гідролізує жирні кислоти, що містяться у фосфоліпідах клітинних мембран. З усіх видів змій їх секреторний PLA2 (sPLA2) є найважливішим, функціонуючи як низькомолекулярний Ca^{2+} -залежний фермент. Коли запальний каскад активується, sPLA2 вивільняється в біологічні рідини, посилюючи активність клітин імунної системи, особливо макрофагів. Автори відзначають, що під впливом ферменту відбувається збільшення продукції цитокінів альвеолярними макрофагами. Вони також показали, що групи sPLA2 IIA і X сприяють секреції судинного ендотеліального фактора росту A і C (VEGF-A і VEGF-C) легеневиими макрофагами через рецептор-опосередкований шлях. Крім того,

цей фермент, отриманий з отрути, підвищив активність нейтрофілів і запустив власний цитозольний PLA₂, що призвело до синтезу метаболітів арахідонової кислоти, які стимулюють продукцію цитокінів, зокрема TNF- α , IL-6 та IL-10, що призводить до значної запальної реакції в легенях.

Дослідники виявили рідкісне ускладнення, яке виникає у пацієнтів, укушених горбоносою гадюкою (*Hypnale hypnale*) [154]. Рано після ін'єкції отрути спостерігалася легенева кровотеча разом із помірними змінами коагулограми. Крім того, спостерігалися ознаки вираженого застою крові та набряку легень. Ці симптоми виникають через високу концентрацію SVMPS в отруті, яка відіграє вирішальну роль у виникненні коагулопатій.

Зрозуміло, що порушення протеїнового гомеостазу (тобто протеостазу) може свідчити про різні патології дихальної системи [111]. Тому, у нашій науковій роботі досліджується та порівнюється потенційний вплив отрут типових для Східної Європи видів гадюки *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* на протеостаз легеневої тканини щурів.

Наше дослідження спрямоване на визначення потенційних ефектів отрути європейської гадюки підтипів *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* на протеостаз легеневої тканини щурів і стабільність протеомів після впливу отрути змії. Результати визначення загального протеїна виявили зниження рівня протеїнів легеневої тканини, спричинене отрутою *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*. Отрута *Vipera berus berus* мінімально впливає на загальну концентрацію протеїну в легенях. Навпаки, отрута *Vipera berus nikolskii* значно знижує ці показники порівняно з контролем, що може свідчити про деградацію протеїну та потенційну активацію протеолітичного процесу. Під впливом отрути *Vipera berus berus* легенева тканина містить протеїнові фракції 67–35 кДа, 35–10 кДа, а також ≥ 150 кДа, що не спостерігається на тлі впливу отрути *Vipera berus nikolskii*. Окрім згаданих вище фракцій 67–35 кДа та 35–10 кДа, в останній були відзначені протеїнові молекули ≤ 10 кДа.

Активність ферментів отрути, зокрема металопротеїназ [67], може пояснити деградацію цього протеїна під час дії отрути змії, а також активацію

металопротеїназ тканинного матриксу, що призводить до руйнування клітин і деградації позаклітинного матриксу [58]. Отримані результати свідчать про те, що отрута *Vipera berus nikolskii* має більший протеолітичний і загальний тканиноруйнівний потенціал, що можна пояснити його дещо відмінним ферментативним профілем порівняно з іншими підвидами *Vipera berus* [184].

Видимий перерозподіл протеїнових фракцій у легеневій тканині може бути результатом неконтрольованої та неселективної ферментативної деградації клітинних компонентів і протеїнів позаклітинного матриксу, включаючи великі протеїни, такі як ламінін та колаген [108]. Зміни в протеїновому гомеостазі є нормальним явищем в органах і тканинах, наприклад під час ремоделювання протеїнів позаклітинного матриксу. Однак швидкі зміни протеїнового складу можуть свідчити про патологічні процеси в тканинах. У легенях такі зміни можуть бути спровоковані хронічними захворюваннями легень, такими як хронічна обструктивна хвороба легень, астма, ідіопатичний легеневий фіброз та інші [33]. Наявність вищих фракцій протеїна, які відсутні в контрольній групі, також може свідчити про те, що отрута *Vipera berus nikolskii* може спричинити значно більш серйозне ураження легеневої тканини, ніж отрута, викликана *Vipera berus berus*. Крім того, потенційне утворення деградованих неправильно згорнутих протеїнів провокує запальну реакцію, яка може посилити пошкодження тканин [30].

Результати зимографічного аналізу вказують на перерозподіл протеолітично активних протеїнових фракцій у тканинах легень та появу нових протеолітичних фракцій після впливу отрути *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*. Потенційна загроза, яку створюють ці «нові» ферментні фракції, полягає в їхній можливій стійкості до алостеричних інгібіторів, оскільки місце зв'язування таких інгібіторів може бути скомпрометоване. Отже, вони можуть прискорити швидкість протеолізу, тим самим завдаючи більшої шкоди тканині. Крім того, неконтрольований протеоліз під час отруєння може активувати різні попередники ферментів (тобто, зимогени), які вже присутні в тканинах і клітинах [160]. Розпад колагену і желатину,

ймовірно, свідчить про наявність матриксних металопротеїназ при деяких захворюваннях легень, таких як хронічний обструктивний бронхіт і ідіопатична легенева легенева хвороба, легеневий фіброз [39]. Нерегульована активність цих ферментів може призвести до руйнування позаклітинного матриксу та судинних ушкоджень, що призводить до подальших кровотеч [170].

Надзвичайно високі рівні низькомолекулярних пептидів і пептидів середньої маси, ймовірно, є наслідком неконтрольованого протеолізу та колапсу протеостазу, оскільки екзопептидази зазвичай розкладають такі пептиди. Молекули середньої маси служать біохімічними маркерами ендогенної інтоксикації та запалення. Крім того, їх діяльність порушує численні біохімічні процеси та каскади [124]. Таким чином, утворення та накопичення молекул середньої маси разом з подальшою ендогенною інтоксикацією можуть бути причиною різноманітних вражень органів, спричинених дією отрути *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*.

Дослідження хроматографічного розділення пептидів тканин легень демонструють підвищення їх концентрації та утворення додаткових фракцій пептидів, відсутніх у контрольній групі. Різні молекулярні маси цих фракцій можна пояснити складом отрути та механізмом дії протеази. Хоча нам бракує інформації про природу цих пептидних фракцій, вони можуть проявляти біоактивні властивості. Відомо, що при деяких захворюваннях протеази можуть активувати неактивні пептиди, які, у свою чергу, можуть діяти як медіатори та месенджери в численних біохімічних процесах і каскадах [145]. Наприклад, продукти деградації протеїнів позаклітинного матриксу, які також називають «матрикінами» та «матрикриптинами», можуть сприяти запальним процесам, рекрутувати імунні клітини, контролювати апоптоз та інгібувати ангіогенез, серед інших функцій [85]. Таким чином, можна припустити, що унікальні пептидні фракції, ідентифіковані під час дії отрути *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* також можуть впливати на гомеостаз легеневої тканини.

Однак точне визначення їхніх властивостей і функцій представляє складну область для подальших досліджень.

Таким чином, ми підтвердили шкідливий вплив *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii* на протеостаз легеневої тканини щурів. Результати якісного та кількісного аналізу загального протеїну, протеолітичної активності та дослідження вмісту молекул середньої маси переконливо свідчать про активацію деструктивних процесів, викликаних отрутою гадюки. У довгостроковій перспективі такий колапс протеостазу може призвести до ускладнень з боку дихальної системи. Крім того, результати показали, що порівняно з *Vipera berus berus*, отрута *Vipera berus nikolskii* значно згубніше впливає на легеневу тканину.

Останні дослідження показали значні гістологічні зміни в дихальній системі в результаті укусів *Crotalus durissus terrificus*. Аналіз зразків легеневої тканини, взятих через 2, 6 і 12 годин після підшкірного введення кротоксину мишам, виявив такі зміни, як зменшення площі альвеолярних мішечків і збільшення товщини стінок альвеол. Помітні знахідки включали застійні явища, крововиливи, інфільтрацію поліморфноядерними лейкоцитами, наявність пінистих макрофагів і підвищену проникність легневих судин. У гомогенатах спостерігалось підвищення активності мієлопероксидази. Крім того, встановлено, що кротоксин цього виду гадюк має нейротоксичну дію. Цей β -нейротоксин спричиняє блокаду імпульсів у нервово-м'язових синапсах шляхом інгібування вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних мембран та індукування постсинаптичної десенсибілізації нікотинових рецепторів, що призводить до млявого паралічу дихальних м'язів. Крім того, PLA2 у кротоксині сприяє розщепленню фосфоліпідів клітинної мембрани, ініціюючи каскад арахідонової кислоти та виробництво простагландину E2 (PGE2), який пов'язаний з міо- та нейротоксичністю, а також активацією імунної відповіді [142].

Дослідження показують, що отрута гадюки *Crotalus durissus cascavella* призводить до змін у гістологічній структурі бронхіального дерева, бронхіол і

альвеол, що призводить до емфіземи та ателектазу. Ці структурні зміни супроводжуються помірним набряком легеневої тканини, пов'язаним із прямою токсичною дією отрути. Крім того, ключовою особливістю токсину є його здатність викликати гостре ураження дихальної системи, про що морфологічно свідчить запальна інфільтрація легень лімфоцитами та плазматичними клітинами [18].

Результати нашого морфологічного дослідження доповнили та розширили вище наведені дані. Гістологічне дослідження легень експериментальних тварин при дії отрути гадюки *Vipera berus berus* показало, що в органі відбуваються значні деструктивні та запальні зміни усіх складових компонентів. Гемотоксини спровокували гемодинамічні розлади із перебудовою стінок судин, зокрема підвищеною проникністю, що призводить до набряку стінки, дезорганізації амофного компоненту та волокон, периваскулярної, інтерстиційної та перибронхіальної сполучної тканини. Збільшення кількості глікопротеїнів в їх складі підтверджується вираженими PAS-позитивними властивостями, а перерозподіл та зростання кількості сульфатованих глікозаміногліканів з "Хейл"-позитивними властивостями. Токсичний вплив отрути *Vipera berus berus* провокує коагулопатії, що проявляється гістологічно стазами, складжами еритроцитів та формуванням тромбів. Розлади кровообігу супроводжуються накопиченням фібрину інтра- та екстраваскулярно, що підтверджує розвиток ДВЗ синдрому.

Альтерація стінок судин проявляється також діapedезами формених елементів в просвіті альвеол. Активація запальних процесів респіраторного відділу легень характеризується наявністю запальних локальних конгломератів макрофагів, лімфоцитів, нейтрофілів переважно в локусах ателектазів. Для бронхів характерне пошкодження стінки з альтерацією усіх оболонок. В більшості полів зору в паренхімі легень та переважно в стінці бронхів виявляються об'ємні запальні інфільтрати в яких виявляються лімфоцити макрофаги. В частини бронхів спостерігається обструкція бронхів за рахунок бронхоспазму, не тільки дрібних бронхів, а й середнього діаметру.

Вплив отрути *Vipera berus nikolskii* призводить до значних альтеративних, дегенеративних та запальних змін бронхів, судин, строми та паренхіми органу. Внаслідок токсичного впливу отрути першочергового впливу зазнають безпосередньо судини легень, що проявляється ремоделюванням стінки, її потовщенням або локальним витонченням, ерозивними і десквамативними процесами ендотелію, набряком та розволокненням адвентиції, зростанням площ запальних периваскулярних інфільтратів. Токсичний вплив отрути цього виду гадюк першочергово впливає на судинну стінку, призводячи до утворення набряків та перебудови волокнистих структур і аморфного компонента переважно перибронхіальної та периваскулярної сполучної тканини. Гемотоксини спричиняють значні гемодинамічні розлади в легенях дослідних тварин, що характеризується повнокров'ям не тільки вен, а і артерій; тромбоутворенням, складжуванням еритроцитів. Прямий вплив отрути *Vipera berus nikolskii* призвів до значних деструктивних, десквамативних та ерозивних змін епітелію бронхів в їх просвіт з оголенням базальної мембрани. Підвищена проникність стінок кровоносних судин та дегенеративно-запальні процеси стінок бронхів призводить до локальних та дифузних крововиливів, зокрема в просвіт бронха. Десквамативно-ерозивні процеси характерні для епітелію слизової оболонки більшості бронхів як великого, так і середнього та дрібного діаметрів. Альтерація респіраторного відділу легень білих щурів внаслідок дії отрути *Vipera berus nikolskii* характеризується потовщенням стінок альвеол та формуванням значних площ дис- та ателектазів, які інтенсивно інфільтровані лімфоцитами та макрофагами. Підвищена проникність судинної стінки від впливу гемотоксинів, руйнування стінки судин призводять до локальних або обширних геморагій. Зростають площі крововиливів у респіраторному відділі легень. В субплевральних зонах респіраторний відділ легень змінений по емфізематозному типу, альвеоли перерозтягнуті, міжальвеолярні перегородки значно витончені, що не забезпечує нормальний перебіг газообміну. В легенях щурів в периваскулярній, перибронхіальній та переважно в зонах дис- та

ателектазів респіраторного відділу визначається накопичення яскраво “Хейл”-позитивних макрофагів-гемосидерофагів, як прояв крововилів та розпаду гемоглобіну. В паренхімі легень спостерігається скупчення пінистих макрофагів, що містяться в просвіті альвеол або в ділянках гістолейкоцитарних інфільтратів та є проявом патологічного нагромадження ліпідів в їх цитоплазмі.

При більш детальному дослідженні легень тварин, які зазнали впливу отрути *Vipera berus berus*, на субмікроскопічному рівні спостерігались значні ультраструктурні зміни стінки альвеол. Пряма токсична дія отрути, впершу чергу, позначалася на стані мікросудин. Гемокапіляри переважно мали розширені, повнокровні просвіти зі стазом і еритроцитарним складом, часто виявлялися активовані нейтрофільні гранулоцити. Базальна мембрана гемокапілярів на значних ділянках була набрякла, пухка або однорідна, з підвищеною осміофілією. Ультраструктурне дослідження альвеолоцитів І типу показало значні аномалії. Альвеолярна стінка потовщена в основному за рахунок набряку та активації фібробластичних клітин. Суттєво змінено ультраструктурний стан альвеолярів ІІ типу, що характеризується порушеннями цитоплазми та клітинного ядра. У гіалоплазмі були деструктуровані органели загального призначення. Більшість мембранних органоїдів синтетичного апарату були вакуолізовані, пошкоджуючи їх мембрани. У цитоплазмі клітин виявлено багато об'ємних вакуолей. Виявлено деформовані пластинчасті тільця, осміофільний вміст фрагментований або однорідний. Під дією отрути *Vipera berus berus* в просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів як прояв захисної реакції. Для забезпечення гетерофагоцитозу клітини утворюють об'ємні цитоплазматичні утворення. Однак альтернативно модифіковані та молоді макрофаги також присутні в просвіті альвеол.

Електронномікроскопічне вивчення респіраторного відділу легень щурів на тлі впливу отрути *Vipera berus nikolskii* показало подібну тенденцію деструктивно-дегенеративних змін компонентів альвеол, проте ступінь їх

альтерації був більш значним. Первинно токсичний вплив отрути чинив пряме пошкодження стінки гемокапілярів із сладжами, стазами, тромбами та геморагіями, як прояв ДВЗ-синдрому. Міжклітинні контакти часто втрачали свою структурованість. Значних змін ультраструктури зазнавала альвеолокапілярна базальна мембрана, яка на значних площах була гомогенна, набрякла, розпушена. Пошкодження стінки альвеол, накопичення в їх просвіті клітинного детриту, фібрину та формених елементів крові спричинило запальну реакцію з нагромадженням в просвіті альвеол нейтрофільних гранулоцитів. Серед їх популяції визначалися чисельні юні, паличкоядерні та сегментоядерні форми, попри те вони були альтеративно змінені. Часто визначається їх адгезія до стінки альвеоли. Респіраторні епітеліоцити, що вистеляють на більшому протязі стінку альвеол зонально втрачали цілісність плазмолем. Субмікроскопічна організація секреторних альвеолоцитів за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* характеризувалася зменшенням числа секреторних, ламелярних тілець в їх цитоплазмі, вони були великі, вакуолізовані, із невисоким секреторним вмістом. Поодинокі визначалися щільні мультивезикулярні тільця. Як прояв захисних, імунних процесів в просвіті альвеол за умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* на респіраторний відділ легень щурів, свідчить наявність в інтерстиції плазмоцитів, які містили округле, гетерохроматинове ядро з невеликим ядерцем, цитоплазма містила добре розвинені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, невеликі осміофільні мітохондрії з нечітко контурованими кристами. Також в альвеолах визначалася значна кількість альвеолярних макрофагів, що були рідко фіксовані до стінки, переважно вільно розміщені в просвіті альвеол. Серед генерації клітин переважали деструктивно змінені та активно фагоцитуючі. Для ефективного забезпечення процесу фагоцитозу містяться первинні невеликі лізосоми та вторинні з вмістом підвищеної осміофільності фагосоми. Плазмолема формує на деяких ділянках значні, об'ємні вип'ячування.

У тварин на фоні дії отрути гадюк *Vipera berus berus* морфометрично досліджено достовірне зростання середнього значення площі судин у 1,31

раза, прогресивно зростали також середні значення площі бронхів та лімфоїдної тканини у 2,24 та 2,23 рази; відповідно, середній показник респіраторного відділу достовірно зменшується та складає 0,8 відносно інтактного значення. Морфометрично досліджено, що за умов впливу токсинів *Vipera berus berus* у легенях дослідних тварин відносні частки дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої легеневої тканини достовірно зростали у 6,03; 7,15 та 2,0 рази; відповідно прогресивно зменшується середнє значення тканини легень з незміненою гістоструктурою, що складає 0,31 відносно інтактного значення.

У тварин на фоні впливу отрути гадюк *Vipera berus nikolskii*, при морфометричному підрахунку встановлено достовірне збільшення середнього показника площі судин у 1,55 рази, порівняно із значенням інтактної групи. Поряд із судинами також зростали середні значення площі бронхів і лімфоїдної тканини відповідно у 2,49 та 2,58 рази. Тому середнє значення респіраторного відділу достовірно знижується та складає 0,74 порівняно з інтактним показником. Значення відносних площ дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої тканини легень достовірно збільшувалися у 6,64; 8,80 і 2,92 рази, тому середнє значення тканини легень з незміненою гістоструктурою знижується і складає 0,11 відносно інтактного значення.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання щодо встановлення змін структури легень щурів, що спостерігаються на тлі впливу отрути гадюк виду *Vipera berus*.

1. Токсичний вплив отрути *Vipera berus berus* спричинив значні зміни судинного, стромального та перенхіматозного компонентів. Відбувається перебудова судинного русла, з формуванням коагулопатій, тромбозів. Підвищення проникності стінки судин супроводжується розвитком ДВЗ-синдрому та крововиливами. В стінці бронхів та респіраторному відділі виявляються запальні явища, скупчення пінистих макрофагів.

За умов дії отрути *Vipera berus nikolskii* на легені лабораторних тварин встановлено глибокі деструктивно-дегенеративні зміни судин, бронхів та респіраторного відділу з розвитком ДВЗ-синдрому значних площ запалення, різними формами коагулопатій та дифузними і локальними крововиливами.

2. При проведенні морфометричного дослідження на фоні дії отрути *V. berus berus* відбувається ремоделювання компонентів респіраторного відділу (достовірне зростання середнього значення площі судин у 1,31 рази, прогресивно зростали середні значення площі бронхів та лімфоїдної тканини у 2,24 та 2,23 рази; середній показник респіраторного відділу достовірно зменшується та складає 0,8 відносно інтактного значення) з формуванням значних площ дис- та ателектазів, зон емфіземи (зростання відносних часток у 6,03; 7,15 та 2,0 рази відповідно, що призводить до зменшення середнього значення площі легень з незміненою гістоструктурою, що складає 0,31 відносно інтактного значення).

У тварин на фоні впливу отрути гадюк *Vipera berus nikolskii*, при морфометричному підрахунку встановлено достовірне збільшення середнього показника площі судин у 1,55 раз, поряд із судинами також зростали середні

значення площі бронхів і лімфоїдної тканини відповідно у 2,49 та 2,58 рази порівняно із значенням інтактної групи (середнє значення респіраторного відділу достовірно знижується та складає 0,74 порівняно з інтактним показником). Значення відносних площ дис- та ателектазів, емфізематозно зміненої тканини легень достовірно збільшувалися у 6,64; 8,80 і 2,92 рази (середнє значення тканини легень з незміненою гістоструктурою знижується і складає 0,11 відносно інтактного значення).

3. При впливі отрути *Vipera berus berus*, на субмікроскопічному рівні спостерігались значні ультраструктурні зміни стінки альвеол. Гемокапіляри з розширеними просвітами зі стазом і еритроцитарним складом. Базальна мембрана гемокапілярів набрякла. Альвеолярна стінка альвеолоцитів І типу потовщена за рахунок набряку та активації фібробластичних клітин. Суттєво змінено ультраструктурний стан альвеолоцитів ІІ типу – порушення цитоплазми та клітинного ядра. Виявлено деформовані пластинчасті тільця, осміофільний вміст фрагментований або однорідний. В просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів. Для забезпечення гетерофагоцитозу клітини утворюють об'ємні цитоплазматичні утворення.

Електронномікроскопічне вивчення легень щурів на тлі впливу отрути *Vipera berus nikolskii* показало подібну тенденцію деструктивно-дегенеративних змін компонентів альвеол, проте ступінь їх альтерації був більш значним. Спостерігається пошкодження стінки гемокапілярів із складжаними, стазами, тромбами та геморагіями. Альвеолокапілярна базальна мембрана на значних площах гомогенна, набрякла, розпушена. Пошкодження стінки альвеол, накопичення в їх просвіті клітинного детриту, фібрину та формених елементів крові спричинило запальну реакцію з нагромадженням в просвіті альвеол нейтрофільних гранулоцитів. Респіраторні епітеліоцити зонально втрачають цілісність плазмолем. Спостерігається зменшення числа секреторних, ламелярних тілець в цитоплазмі секреторних альвеолоцитів. Поодинокі визначалися щільні мультивезикулярні тільця. Відзначається

наявність в інтерстиції плазмоцитів, значна кількість альвеолярних макрофагів.

4. Результати якісного та кількісного аналізу загального протеїну, дослідження протеолітичної активності та вмісту молекул середньої маси переконливо свідчать про активацію деструктивних процесів, які запускає отрута гадюк. Спостерігається значне зниження рівня загального протеїну ($51,29 \pm 4,85$ мг/г тканини при дії отрути *Vipera berus nikolskii*, і $60,92 \pm 1,30$ мг/г при дії отрути *Vipera berus berus*, порівняно з $65,01 \pm 1,56$ мг/г у контролі). Утворюються протеїни середньої та низької молекулярної маси (переважно 10-35 кДа) з фібриногенолітичною та желатинолітичною активністю, причому отрута *Vipera berus nikolskii* індукує утворення нової колагенолітично-активної протеїнової фракції (з молекулярною масою 1186 - 1207 Да), якої взагалі немає в контрольній групі. На фоні дії отрути *Vipera berus nikolskii* виникає розщеплення відносно більших кількостей високомолекулярних ферментів з одночасним утворенням більшої кількості ферментативних фракцій з меншою молекулярною масою. Відносний вміст молекул середньої маси при дії отрути *Vipera berus berus* і *Vipera berus nikolskii*, значно зростає (на довжині хвилі 238 нм - в 36,3 рази та 59 разів відповідно; на довжині хвилі 238 нм - у 4,4 рази та 9 разів відповідно). Таким чином, порівняно з *V. berus berus*, отрута *V. berus nikolskii* має набагато більш шкідливу дію на легені щурів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аль-Мозенар Мохамед Яхья. (2003). Синдром "метаболічної інтоксикації" у хворих на хронічний некалькульозний холецистит, поєднаний з хронічним тонзилітом. *Український медичний альманах*, 6, (2), 7—8.
2. Варецька Т.В. (1960). Мікрогетерогенність фібриногену. Кріофібриноген. *Укр. біохім. Журн*, 32, 2, 13-24.
3. Ласавуц В. С., Маєвський О. Є., & Яременко Л. М. (2023). Вплив отрути гадюки *Vipera berus berus* та *Vipera nikolskii* на клітинний склад легень щурів. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, Київ, 8 - 9 червня 2023 – Київ – С. 124.
4. Ласавуц В.С., Сокурєнко Л.М. & Маєвський Є.О. (2022). Токсичний ефект отрут гадюк на протеолітичні процеси у тканинах легень. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини», Київ, 16 березня 2022 року – Київ – С. 112.
5. Маляр-Газда, Н. М., & Борсенко, М. І. (2014). Гемодинамічні параметри кровоплину та динаміка інтоксикаційного синдрому у пацієнтів після укусу отруйних змій. *Наук. вісник Ужгородського універс., серія «Медицина»*, 2 (50), 17-20.
6. Мельницька, Г. М., & Погоріла, І. О. (2015). *Отруйні змії України. Біологічні дослідження: збірник наукових праць*. Житомир: ПП «Рута». (10)
7. Рыбальченко В.К. & Коганов Н.М (1988). Структура и функции мембран. *Практикум – К.:Вища школа*, 79-83.
8. Шальнєв, О. Ю., Шилан, В. І., & Шилан, К. В. (2016). Смерть від отруєння зміїнною отрутою, як наслідок укусу гадюки. *Судово-медична експертиза*, 2, 85-87.

9. Ahamed, M., Akhtar, M. J., Alhadlaq, H. A., & Alrokayan, S. A. (2015). Assessment of the lung toxicity of copper oxide nanoparticles: current status. *Nanomedicine (Lond)*, 10 (5), 2365-2377. Doi: 10.2217/nnm.15.72.
10. 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.
11. Al-Shekhadat, R. I., Lopushanskaya, K. S., Segura, Á., Gutiérrez, J. M., Calvete, J. J., & Pla, D. (2019). Vipera berus berus venom from Russia: Venomics, bioactivities and preclinical assessment of microgen antivenom. *Toxins (Basel)*, 11 (2): 90. Doi: 10.3390/toxins11020090.
12. 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.
13. Allard, B., Panariti, A., & Martin, J. G. (2018). Alveolar macrophages in the resolution of inflammation, tissue repair, and tolerance to infection. *Front Immunol*, 9:1777. Doi: 10.3389/fimmu.2018.01777.
14. Aloulou, A., Rahier, R., Arhab, Y., Noiriel, A., & Abousalham, A. (2018). Phospholipases: An overview. *Methods Mol Biol*, 1835, 69-105. Doi: 10.1007/978-1-4939-8672-9_3.
15. Alsamri, M. T., Pramathan, T., & Souid, A. K. (2013). In vitro study on the pulmonary cytotoxicity of amiodarone. *Toxicol Mech Methods*, 23 (8), 610-616. Doi: 10.3109/15376516.2013.812170.
16. 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.
17. Azevedo E, Figueiredo RG, Guerreiro MLDS, de Moura MS, Trindade SC... Biondi I. (2023). Pathophysiological and Clinical Significance of *Crotalus*

durissus cascavella Venom-Induced Pulmonary Impairment in a Murine Model. *Toxins (Basel)*, 15(4), 282. doi: 10.3390/toxins15040282.

18. Azevedo, E., Figueiredo, R. G., Pinto, R. V., Ramos, T. C. F., Sampaio, G. P., Bulhosa Santos, R. P., ... Trindade, S. C. (2020). Evaluation of systemic inflammatory response and lung injury induced by *Crotalus durissus cascavella* venom. *PLoS One*, 15(2), e0224584. doi: 10.1371/journal.pone.0224584

19. Balijs, 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. <https://doi.org/10.3390/toxins12030187>.

20. Bart G, Pineau S, Biron C, Connault J, & Artifoni M. (2016). Bilateral pulmonary embolism following a viper envenomation in France: A case report and review. *Medicine (United States)*, 95, 1-3. DOI: 10.1097/MD.00000000000002798

21. Bhagwat, K., & Amar, L. (2013). Blood hemoglobin, lactate dehydrogenase and total creatine kinase combinely as markers of hemolysis and rhabdomyolysis associated with snake bite. *Int J Toxicol Pharmacol Res*, 5 (1), 5-8.

22. 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.

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

24. Binu, A. J., Mishra, A. K., 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.

25. 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

26. Boda, F., Banfai, K., Garai, K., Curticapean, A., Berta, L., Sipos, E., ... Kvell, K. (2018). Effect of viper ammodytes ammodytes snake venom on the human cytokine network. *Toxins (Basel)*, 10 (7): 259. <https://doi.org/10.3390/toxins10070259>.
27. 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.
28. 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.
29. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229989>.
30. Bouchecareilh M, Balch WE. (2011). Proteostasis: A new therapeutic paradigm for pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*, 8, 189-95. (21) DOI: 10.1513/pats.201008-055MS
31. 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), pp. 248–254
32. Branchett, W. J., & Lloyd, C. M. (2019). Regulatory cytokine function in the respiratory tract. *Mucosal Immunol*, 12(3), 589-600. Doi: 10.1038/s41385-019-0158-0.
33. Burgstaller G, Oehrle B, Gerckens M, White ES, Schiller HB, & Eickelberg O. (2017). The instructive extracellular matrix of the lung: Basic composition and alterations in chronic lung disease. *Eur Resp J*, 50, 1601805. (20) DOI: 10.1183/13993003.01805-2016

34. 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.
35. Castro, A. C., Escalante, T., Rucavado, A., & Gutierrez, 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.
36. Cerdo, R. C. A., Menaldo, D. L., Costa, T. R., Zocal, 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. <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0170-y>.
37. 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.
38. Chaibabutr, N., Vasaruchapong, T., Chanhom, L., Rungsipipat, A., & Sitprija, V. (2014). Acute effect of Russell's viper (*Daboia siamensis*) venom on renal tubular handling of sodium in isolated rabbit kidney. *Asian Biomedicine*, 8 (2), 195-202. Doi: 10.5372/1905-7415.0802.279.
39. Chakrabarti S, & Patel KD. (2005). Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res*, 31, 599-621. (23) DOI: 10.1080/019021490944232
40. Chibber B.A., Deutsch D.G. & Mertz E.T. (1974). Affinity chromatography of plasminogen. *Methods Enzymol*, 34, P. 424-432
41. Cook, P. C., & MacDonald, A. S. (2016). Dendritic cells in lung immunopathology. *Semin Immunopathol*, 38(4), 449-460. Doi: 10.1007/s00281-016-0571-3.
42. 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.

43. De Carvalho, A. E. Z., Giannotti, K., Junior, E. L., Matsubara, M., Santos, M. C. D., Fortes-Dias, C. L., ... Teixeira, C. (2019). Crotalus durissus ruruima snake venom and a phospholipase A₂ isolated from this venom elicit macrophages to form lipid droplets and synthesize inflammatory lipid mediators. *J Immunol Res*, 2745286. URL: <https://doi.org/10.1155/2019/2745286>.

44. De Ruyscher, D., Niedermann, G., Burnet, N. G., Siva, S., Lee, A. W. N., & Hegi-Johnson, F. (2019). Radiotherapy toxicity. *Nat Rev Dis Primers*, 5 (1), 13. Doi: 10.1038/s41572-019-0064-5.

45. Fanelli, V., & Ranieri, V. M. (2015). Mechanisms and clinical consequences of acute lung injury. *Ann Am Thorac Soc*, 1, 3-8. Doi: 10.1513/AnnalsATS.201407-340MG.

46. Ferrara AL, Cristinziano L, Poto R, Criscuolo G, Galdiero MR, Modestino L... Varricchi G. (2021). IL-33 and Superantigenic Activation of Human Lung Mast Cells Induce the Release of Angiogenic and Lymphangiogenic Factors. *Cells*, 10(1), 145. doi: 10.3390/cells10010145.

47. Ferrara, A. L., Galdiero, M. R., Fiorelli, A., Cristinziano, L., Granata, F., Marone, G., ... Loffredo, S. (2021). Macrophage-polarizing stimuli differentially modulate the inflammatory profile induced by the secreted phospholipase A₂ group IA in human lung macrophages. *Cytokine*, 138, 155378. doi: [10.1016/j.cyto.2020.155378](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155378)

48. 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. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00218>.

49. 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.

50. 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.

51. Gharib, S. A., Manicone, A. M., & Parks, W. C. (2018). Matrix metalloproteinases in emphysema. *Matrix Biol*, 73, 34-51. Doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.018.

52. Ghita, M., Dunne, V., Hanna, G. G., Prise, K. M., Williams, J. P., & Butterworth, K. T. (2019). Preclinical models of radiation-induced lung damage: challenges and opportunities for small animal radiotherapy. *Br J Radiol*, 92 (1095), 20180473. Doi: 10.1259/bjr.20180473.

53. Ghosh, A., Coakley, R. D., Ghio, A. J., Muhlebach, M. S., Esther, C. R. Jr., Alexis, N. E., ... Tarran, R. (2019). Chronic E-cigarette use increases neutrophil elastase and matrix metalloprotease levels in the lung. *Am J Respir Crit Care Med*, 200 (11), 1392-1401. Doi: 10.1164/rccm.201903-0615OC.

54. Gnanathanan A, Alvitigala BY, Gooneratne LV, Dharmasena I, Premawardana N, Wimalachandra M... Arya R (2023). The use of rotational thromboelastometry parameters in understanding the coagulopathy following hump-nosed viper (*Hypnale spp*) bites: a preliminary study. *Trop Dis Travel Med Vaccines*, 8(1), 28. doi: 10.1186/s40794-022-00186-2.

55. Gnanathanan, A., & Rodrigo, C. (2014). Pulmonary effects and complications of snake-bites. *Chest*, 146 (5), 1403-1412. Doi: 10.1378/chest.13-2674.

56. Golestani, R., Razavian, M., Ye, Y., Zhang, J., Jung, J. J., Toczek, J., ... Sadeghi, M. M. (2017). Matrix metalloproteinase-targeted imaging of lung inflammation and remodeling. *J Nucl Med*, 58 (1), 138-143. Doi: 10.2967/jnumed.116.176198.

57. Gosens, I., Cassee, F. R., Zanella, M., Manodori, L., Brunelli, A., Costa, A. L., ... Stone, V. (2016). Organ burden and pulmonary toxicity of nano-sized copper (II) oxide particles after short-term inhalation exposure. *Nanotoxicology*, 10 (8), 1084-1095. Doi: 10.3109/17435390.2016.1172678.
58. Gutiérrez JM, Rucavado A, Escalante T, Herrera C, Fernández J, & Lomonte B (2018). Unresolved issues in the understanding of the pathogenesis of local tissue damage induced by snake venoms. *Toxicon*, 148, 123-31. (17) DOI: 10.1016/j.toxicon.2018.04.016
59. 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.
60. 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.
61. Gutiérrez JM, Sánchez A, Durán G, Segura Á, Herrera M, Vargas M... León G (2024). Comparison of the intrageneric neutralization scope of monospecific, bispecific/monogeneric and polyspecific/monogeneric antisera raised in horses immunized with sub-Saharan African snake venoms. *PLoS Negl Trop Dis*, 18(5), e0012187. doi: 10.1371/journal.pntd.0012187.
62. Han, B., Pei, Z., Shi, L., Wang, Q., Li, C., Zhang, B, ... Zhang, R. (2020). TiO₂ nanoparticles caused DNA damage in lung and extra-pulmonary organs through ROS-activated FOXO3a signaling pathway after intratracheal administration in rats. *Int J Nanomedicine*, 15, 6279-6294. Doi: 10.2147/IJN.S254969.
63. Han, S. H., & Mallampalli, R. K. (2015). The acute respiratory distress syndrome: From mechanism to translation. *J Immunol*, 194, 855-860. Doi: 10.4049/jimmunol.1402513.

64. Hanania, A. N., Mainwaring, W., Ghebre, Y. T., Hanania, N. A., & Ludwig, M. (2019). Radiation-induced lung injury: Assessment and management. *Chest*, 156 (1), 150-162. Doi: 10.1016/j.chest.2019.03.033.
65. Hermansen MN, Krug AH, Tjønnfjord E & Brabrand M. (2019). Envenomation by the common European adder (*Vipera berus*): A case series of 219 patients. *Eur J Emerg Med*, 26, 362-5 (8) DOI: 10.1097/MEJ.0000000000000577
66. Hermansen MN, Garpvall K, Hauerslev M, Marckmann M, Hansen KS & Chawes BL (2021). Allergic Comorbidity Is a Risk Factor for Not Attending Scheduled Outpatient Visits in Children with Asthma. *Children (Basel)*, 16, 8(12), 1193. doi: 10.3390/children8121193.
67. Herrera C, Escalante T, Voisin MB, Rucavado A, Morazán D & Macêdo JKA (2015). Tissue localization and extracellular matrix degradation by PI, PII and PIII snake venom metalloproteinases: Clues on the mechanisms of venom-induced hemorrhage. *PLoS Negl Trop Dis*, 9, 1-20. (16) DOI: 10.1371/journal.pntd.0003731
68. 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. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114096>.
69. 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.
70. Hughes, K. T., & Beasley, M. B. (2017). Pulmonary manifestations of acute lung injury: More than just diffuse alveolar damage. *Arch Pathol Lab Med*, 141 (7), 916-922. Doi: 10.5858/arpa.2016-0342-RA.
71. Hung, L. Y., Sen, D., Oniskey, T. K., Katzen, J., Cohen, N. A., Vaughan, A. E., ... Herbert, D. R. (2019). Macrophages promote epithelial proliferation following infectious and non-infectious lung injury through a Trefoil factor2-dependent mechanism. *Mucosal Immunol*, 12 (1), 64-76. Doi: 10.1038/s1385-018-0096-2.

72. Islam, K., Seth, S., Roy, A., & Datta, A. K. (2020). Predictors of renal complications in children with hematotoxic snakebite. *Indian Pediatrics*, 57 (5), 427-430. (73) DOI: 10.1007/s13312-020-1817-7
73. 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.
74. J.-P. Chippaux, V. Williams, J. White Snake venom variability: methods of study, results and interpretation // *Toxicon*. – 1991. – Vol. 29, N 11. – P. 1279-1303. DOI: 10.1016/0041-0101(91)90116-9
75. Jacobsen, N. R., Stoeger, T., van den Brule, S., Saber, A. T., Beyerle, A., Vietti, G., ... Moller, P. (2015). Acute and subacute pulmonary toxicity and mortality in mice after intratracheal instillation of ZnO nanoparticles in three laboratories. *Food Chem Toxicol*, 85, 84-95. Doi: 10.1016/j.fct.2015.08.008.
76. 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.
77. 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.
78. 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.
79. Kanno, S., Hirano, S., Mukai, T., Ro, A., Kato, H., Fukuta, M., ... Aoki, Y. (2019). Cellular uptake of paraquat determines subsequent toxicity including mitochondrial damage in lung epithelial cells. *Leg Med (Tokyo)*, 37, 7-14. Doi: 10.1016/j.legalmed.2018.11.008.

80. Karabuva, S., Brizic, I., Latinovic, Z., Leonardi, A., Krizaj, I., & Luksic, B. (2016). Cardiotoxic effects of the *Vipera ammodytes ammodytes* venom fractions in the isolated perfused rat heart. *Toxicon*, 121, 98-104. Doi: 10.1016/j.toxicon.2016.09.001.

81. 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.

82. 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.

83. Kellner, M., Noonepalle, S., Lu, Q., Srivastava, A., Zemskov, E., & Black, S. M. (2017). ROS signaling in the pathogenesis of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Adv Exp Med Biol*, 967, 105-137. Doi: 10.1007/978-3-319-63245-2_8.

84. Kini, R. M., & Koh, C. Y. (2011). Metalloproteases affecting blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation from snake venoms: definition and nomenclature of interaction sites. *Toxins (Basel)*, 8 (10): 284. <https://doi.org/10.3390/toxins8100284>.

85. Kisling A, Lust RM & Katwa LC (2019). What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci*, 228, 30-4. (27) DOI: 10.1016/j.lfs.2019.04.042

86. Knudsen, L., Lopez-Rodriguez, E., Berndt, L., Steffen, L., Ruppert, C., Bates, J. H. T., ... Smith, B. J. (2018). Alveolar micromechanics in bleomycin-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 59 (6), 757-769. Doi: 10.1165/rcmb.2018-0044OC.

87. Kopf, M., Schneider, C., & Nobs, S. P. (2015). The development and function of lung-resident macrophages and dendritic cells. *Nat Immunol*, 16(1), 36-44. Doi: 10.1038/ni.3052.

88. 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.

89. 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.

90. L. Sokurenko, V. Lasavutz & O. Maievskyi (2023). Peptide changes in lung tissue under the influence of *Vipera berus berus* and *berus nikolskii* venom. The 47th FEBS Congress, Paris, 8 – 12 July 2023 – Paris, France. – P. 209.

91. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to *Vipera berus nikolskii* venom. *Morphologia*, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>

92. Lasavutz V. S. (2025). Features of ultrastructural changes in rat lungs under the conditions of the action of *vipera berus viper* venom. «Перспективи та інновації науки» (Серія «Медицина»), 2(48), 1906-1916. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2\(48\)-1906-1916](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2(48)-1906-1916)

93. Lasavutz VS. (2024). Analysis of morphometric parameters of lung tissue under conditions of exposure to the venom of the vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Morphologia*, 18(4), 61-65. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.61-65>

94. Lasavutz, V. S., Yaremenko, L. M., Butska, L. V., Lavrynenko, V. Y., & Zhehulovych, Z. Y. (2024). Morphological state of lungs of rats under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 30(2), 69-75. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(2)-09)

95. 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.

96. 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.

97. Leonardi, A., Sajevec, T., Pungercar, J., & Krijaz, 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.
98. Li, W., Chen, F., & Wu, S. (2016). The related risk factors analysis of snake-bite induced acute kidney injury. *Med Sci Monit*, 22, 2335-2339. Doi: 10.12659/msm.899072.
99. Li, X., Zhao, F., Wang, A., Cheng, P., & Chen, H. (2021). Role and mechanism of autophagy in lung metabolism and repair. *Cell Mol Life Sci*, 78 (12), 5051-5068. Doi: 10.1007/s00018-021-03841-7.
100. Liapis, K., Charitaki, E., & Psaroulaki, A. (2019). Case report: spherocytic hemolytic anemia after envenomation by long-nosed viper (vipera ammodytes). *Am J Trop Med Hyg*, 101 (6), 1442-1445. Doi: 10.4269/ajtmh.19-0611.
101. Lierova, A., Jelicova, M., Nemcova, M., Proksova, M., Pejchal, J., Zarybnicka, L., ... Sinkorova, Z. (2018). Cytokines and radiation-induced pulmonary injuries. *J Radiat Res*, 59 (6), 709-753. Doi: 10.1093/jrr/rry067.
102. Liu, Z., Zhao, H., Liu, W., Li, T., Wang, Y., & Zhao, M. (2015). NLRP₃ inflammasome activation is essential for paraquat-induced acute lung injury. *Inflammation*, 38 (1), 433-444. Doi: 10.1007/s10753-014-0048-2.
103. 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.
104. López-Dávila, A. J., Weber, N., Kraft, T., Martinmehr, 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.

105. Mahalanobish, S., Saha, S., Dutta, S., & Sil, P. C. (2020). Matrix metalloproteinase: An upcoming therapeutic approach for idiopathic pulmonary fibrosis. *Pharmacol Res*, 152, 104591. Doi: 10.1016/j.phrs.2019.104591.
106. Malaque, C. M. S., Duayer, I. F., & Santoro, M. L. (2019). Acute kidney injury induced by thrombotic microangiopathy in two cases of Bothrops envenomation. *Clin Toxicol (Philia)*, 57 (3), 213-216. Doi: 10.1080/15563650.2018.1510129.
107. 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.
108. María Gutiérrez J, & Rucavado A (2000). Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. *Biochimie*, 82, 841-50. (19) DOI: 10.1016/S0300-9084(00)01163-9
109. Marinho, A. D., Silveira, J. A. M., Chaves Filho, A. J. M., Jeorge, A. R. C., Nogueira Junior, 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.
110. 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.
111. Meiners S & Ballweg K (2014). Proteostasis in pediatric pulmonary pathology. *Mol Cell Pediatr*, 1, 1-8. (9) DOI: 10.1186/s40348-014-0011-1
112. 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.

113. Munavar, A., Ali, S. A., Akrem, A., & Betzel, C. (2018). Snake venom peptides: tools of biodiscovery. *Toxins (Basel)*, 10 (11), 474. <https://doi.org/10.3390/toxins10110474>.
114. Mykolenko AZ (2016). Changes of concentration of middle mass molecules in blood serum in the early days of isolated orthopedic trauma complicated by blood loss. *Deutscher Wissenschaftsherold*, 2, 16-8.
115. Naik, B. N., Bhalla, A., Sharma, N., Mokta, J., Singh, S., Gupta, P., ... Dutta, P. (2018). Pituitary dysfunction in survivors of Russell's viper snake bite envenomation: A prospective study. *Neurol India*, 66 (5), 1351-1358. Doi: 10.4103/0028-3886.241378.
116. Naqvi, R. (2016). Snake-bite-induced acute kidney injury. *J Coll Physicians Surg Pak*, 26 (6), 517-520.
117. Nirthanan, S. (2020). Snake three-finger α -neurotoxins and nicotinic acetylcholine receptors: molecules, mechanisms and medicine. *Biochem Pharmacol*, 181, 114168. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114168>.
118. Nova, Z., Skovierova, H., & Calkovska, A. (2019). Alveolar-capillary membrane-related pulmonary cells as a target in endotoxin-induced acute lung injury. *Int J Mol Sci*, 20 (4), 831. Doi: 10.3390/ijms20040831.
119. Nykolaychuk, B.B., Moyn V.M. & Kyrkovskyy V.V. (1991). Laboratory Case, 10, pp. 13-18
120. 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. <https://doi.org/10.3390/toxins10010008>.
121. 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. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100052>.
122. Pach, S., Le Geyt, J., Gutiérrez, J. M., Williams, D., Maduwage, K. P., Habib, A. G., ... Halbert, J. (2020). Paediatric snakebite envenoming: the world's

most neglected 'Neglected Tropical Disease'? *Arch Dis Child*, 105 (12), 1135-1139. Doi: 10.1136/archdischild-2020-319417.

123. 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.

124. Panyim S., & Chalkley R. (1969). High resolution acrylamide gel electrophoresis of histones. *Arch. Biochem. Biophys*, 130, 1, P. 337–346

125. Paolino, G., Di Nicola, M. R., Pontara, A., Didona, D., Moliterni, E., Mercuri, S. R., ... Pampena, R. (2020). Viper snakebite in Europe: a systematic review of a neglected disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 34 (10), 2247-2260. Doi: 10.1111/jdv.16722.

126. Peterfi, O., Boda, F., Szabo, Z., Ferencz, E., & Baba, L. (2019). Hypotensive snake venom components – a mini-review. *Molecules*, 24 (15), 2778. <https://doi.org/10.3390/molecules24152778>.

127. Pinyachat, A. (2016). Comparative studies of structural and functional properties of snake venom metalloproteinases. *J Med Assoc Thai*, 1, 76-88. (116) -

128. Prabhakar, A., Gupta, V., Bhansali, A., Vyas, S., & Khandelwal, N. (2013). Hypopituitarism secondary to snake envenomation. *Neurol India*, 61 (3), 310-311. Doi: 10.4103/0028-3886.115077.

129. Priyamvada, P. S., Shankar, V., Srinivas, B. H., Rajesh, N. G., & Parameswaran, S. (2016). Acute interstitial nephritis following snake envenomation: a single-center experience. *Wilderness Environ Med*, 27 (2), 302-306. Doi: 10.1016/j.wem.2015.12.009.

130. Puzari, U., & Mukherjee, A. K. (2020). Recent developments in diagnostic tools and bioanalytical methods for analysis of snake venom: A critical review. *Anal Chim Acta*, 1137, 208-224. Doi: 10.1016/j.aca.2020.07.054.

131. 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), 719-728. Doi: 10.1093/qjmed/hcv011.

132. Ramirez-Cruz, M. P., Smolinske, S. C., Warrick, B. J., Rayburn, W. F., & Seifert, S. A. (2020). Envenomations during pregnancy reported to the national poison data system, 2009-2018. *Toxicon*, 186, 78-82. Doi: 10.1016/j.toxicon.2020.07.029.

133. Ratnayake, I., Mohamed, F., Buckley, N. A., Gawarammana, I. B., Dissanayake, D. M., Chathuranga, U., ... Isbister, G. K. (2019). Early identification of acute kidney injury in Russell's viper (*Daboia ruusselli*) envenoming using renal biomarkers. *PLoS Negl Trop Dis*, 13 (7), e0007486. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007486>.

134. Reading CJ (1996). Incidence, pathology, and treatment of adder (*Vipera berus* L.) bites in man. *Emerg Med J*, 13, 346-51 (1) DOI: 10.1136/emj.13.5.346

135. Rezaeyan, A., Fardid, R., Haddadi, G. H., Takhshid, M. A., Hosseinzadeh, M., Najafi, M., ... Salajegheh, A. (2016). Evaluating radioprotective effect of hesperidine on acute radiation damage in the lung tissue of rats. *J Biomed Phys Eng*, 6 (3), 165-174.

136. Robbins V., & Summaria L. (1976). Plasminogen and plasmin. *Methods in Enzymology*, 45, P. 257 – 273

137. 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.

138. Rôlo Silvestre, C. M., Nunes, A., Cordeiro, R. J., Eusébio, J. P., Vilaça, M. T., Falcão, T., ... Domingos, A. C. (2021). From the heart to the lung: A case of drug toxicity. *Am J Case Rep*, 22, e929906. Doi: 10.12659/AJCR.929906.

139. 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.

140. Sanchez, P. G., Pasrija, C., Mulligan, M. J., Wadhwa, M., Pratt, D. L., Li, T., ... Griffith, B. P. (2017). A novel large animal model of acute respiratory distress syndrome induced by mitochondrial products. *Ann Surg*, 266 (6), 1091-1096. Doi: 10.1097/SLA.0000000000002011.
141. Sarkar, S., Sinha, R., Chaudhury, A. R., Maduwage, K., Abeyagunawardena, A., Bose, N., ... McCulloch, M. (2021). Snake bite associated with acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*. Doi: 10.1007/s00467-020-04911-x.
142. Sarkar, S., Sinha, R., Chaudhury, A. R., Maduwage, K., Abeyagunawardena, A., Bose, N., ... McCulloch, M. (2021). Snake bite associated with acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*, 2021, 1-12. doi: 10.1007/s00467-020-04911-x
143. 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.
144. Sartim, M. A., Souza, C. O. S., Diniz, C. R. A. F., da Fonseca, V. M. B., Souza, L. O., Peti, A. P. F., ... Sampaio, S. V. (2020). Crotoxin-induced mice lung impairment: role of nicotinic acetylcholine receptors and COX-derived prostanooids. *Biomolecules*, 10 (5): 794. <https://doi.org/10.3390/biom10050794>.
145. Schulte I, Tammen H, Selle H & Schulz-Knappe P (2005). Peptides in body fluids and tissues as markers of disease. *Expert Rev Mol Diagn*, 145-57. (26) DOI: 10.1586/14737159.5.2.145
146. Serhii Shchypanskyi, Oleksandr Maievskyi, Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko, Nataliia Raksha, Tetiana Halenova...& Olexii Savchuk (2024). Proteostasis collapse in rat's lung tissue as one of the effects of European adder (*Vipera berus* subsp. *berus* and *Vipera berus* subsp. *nikolskii*) envenomation. *Curr Issues Pharm Med Sci.*, 37, 4, 195-199. <https://doi.org/10.2478/cipms-2024-0032>

147. 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.
148. Shivaprasad, C., Aiswarya, Y., Sridevi, A., Anupam, B., Amit, G., Rakesh, B., ... Anish, K. (2019). Delayed hypopituitarism following Russell's viper envenomation: a case series and literature review. *Pituitary*, 22 (1), 4-12. Doi: 10.1007/s11102-018-0915-1.
149. 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.
150. Simoes, L. O., Alves, Q. L., Camargo, S. B., Araujo, F. A., Hora, V. R. S., Jesus, R. L. C., ... Silva, D. F. (2021). Cardiac effect induced by *Crotalus durissus cascavella* venom: morphofunctional evidence and mechanism of action. *Toxicol Lett*, 337, 121-133. Doi: 10.1016/j.toxlet.2020.11.019.
151. 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.
152. 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.
153. Srirangan, A., Pushpakumara, J., & Wanigasuriya, K. (2020). A life-threatening complication due to pulmonary haemorrhage following hump-nosed viper bite. *BMC Pulm Med*, 20 (1): 35. Doi: 10.1186/s12890-020-1070-9.
154. *Srirangan A., Gnanathan A & Rodrigo C* (2014). Pulmonary effects and complications of snakebites. *Chest*, 146(5), 1403–1412. doi: 10.1378/chest.13-2674.

155. 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.
156. 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.
157. 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.
158. Tasoulis, T., & Isbister, G. K. (2017). A review and database of snake venom proteomes. *Toxins (Basel)*, 9 (9), 290. Doi: 10.3390/toxins9090290.
159. Toygar, M., Aydin, I., Agilli, M., Aydin, F. N., Oztosun, M., Gul, H., ... Macit, E. (2015). The relation between oxidative stress, inflammation, and neopterin in the paraquat-induced lung toxicity. *Hum Exp Toxicol*, 34 (2), 198-204. Doi: 10.1177/0960327114533808.
160. Twining SS & Simmons WH (1994). Regulation of proteolytic activity in tissues. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 29, 315-83 (22) DOI: 10.3109/10409239409083484
161. 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.
162. 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.
163. Veiga, C., Landau, D., McClelland, J. R., Ledermann, J. A., Hawkes, D., Janes, S. M., ... Devaraj, A. (2018). Long term radiological features of radiation-induced lung damage. *Radiother Oncol*, 126 (2), 300-306. Doi: 10.1016/j.radonc.2017.11.003.

164. Villalta, M., Sampaio, T. L., de Menezes, R. R. P. P. B., Lima, D. B., George, A. R. C., Alves, R. S., ... Gutierrez, J. M. (2019). Nephrotoxicity induced by the venom of *Hypnale hypnale* from Sri Lanka: studies on isolated perfused rat kidney and renal tubular cell lines. *Toxicon*, 165, 40-46. Doi: 10.1016/j.toxicon.2019.04.014.
165. Villar, J., Zhang, H., & Slutsky, A. S. (2019). Lung repair and regeneration in ARDS: Role of PECAM1 and Wnt signaling. *Chest*, 155 (3), 587-594. Doi: 10.1016/j.chest.2018.10.022.
166. Vladislav Lasavutz, Oleksandr Maievskyi & Liudmyla Sokurenko (2024). Proteolytic activity of *Vipera berus berus* and *Berus nikolskii* venom on lung tissue. Biochem, Strasbourg, 18–19 April 2024 – Strasbourg, France – P. 59.
167. Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko & Oleksandr Maievskyi (2022). Protein homeostasis of lung tissue under the influence of *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii* poison. 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists, Istanbul, 5–7 August 2022 – Istanbul, Türkiye – P. 122.
168. 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.
169. Wan, R., Mo, Y., Zhang, Z., Jiang, M., Tang, S., & Zhang, Q. (2017). Cobalt nanoparticles induce lung injury, DNA damage and mutations in mice. *Part Fibre Toxicol*, 14 (1): 38. Doi: 10.1186/s12989-017-0219-z.
170. Warner RL, Beltran L, Younkin EM, Lewis CS, Weiss SJ & Varani J, (2001). Role of Stromelysin 1 and Gelatinase B in experimental acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 24, 537-44. (24) DOI: 10.1165/ajrcmb.24.5.4160
171. 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 Trop Dis*, 13 (1), e0007041. Doi: 10.1371/journal.pntd.0007041.
172. Williamson, J. D., Sadofsky, L. R., & Hart, S. P. (2015). The pathogenesis of bleomycin-induced lung injury in animals and its applicability to

human idiopathic pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res*, 41 (2), 57-73. Doi: 10.3109/01902148.2014.979516.

173. 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, P. 25-31

174. Wirsdorfer, F., & Jendrosseck, V. (2016). The role of lymphocytes in radiotherapy-induced adverse late effects in the lung. *Front Immunol*, 7, 591. Doi: 10.3389/fimmun.2016.00591.

175. 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*, 6592820. Doi: 10.1155/2017/6592820.

176. Xiaoji, Z., Xiao, M., Rui, X., Haibo, C., Chao, Z., Chengjin, L., ... Shengming, Z. (2016). Mechanism underlying acute lung injury due to sulfur mustard exposure in rats. *Toxicol Ind Health*, 32 (8), 1345-1357. Doi: 10.1177/0748233714560603.

177. Xu, L., Xu, J., & Wang, Z. (2014). Molecular mechanisms of paraquat-induced acute lung injury: a current review. *Drug Chem Toxicol*, 37 (2), 130-134. Doi: 10.3109/01480545.2013.834361.

178. Yang, H., Wu, Q. Y., Li, M. Y., Lao, C. S., & Zhang, Y. J. (2017). Pulmonary toxicity in rats caused by exposure to intratracheal instillation of SiO₂ nanoparticles. *Biomed Environ Sci*, 30 (4), 264-279. Doi: 10.3967/bes2017.036.

179. Yang, Z., Sun, Z., Liu, H., Ren, Y., Shao, D., Zhang, W., ... Nie, S. (2015). Connective tissue growth factor stimulates the proliferation, migration and differentiation of lung fibroblasts during paraquat-induced pulmonary fibrosis. *Mol Med Rep*, 12 (1), 1091-1097. Doi: 10.3892/mmr.2015.3537.

180. Yee, K. T., Tongsima, 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.

181. 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.

182. Zhou, T., Song, W. F., Shang, Y., Yao, S. L., & Matalon, S. (2018). Halogen inhalation-induced lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Chin Med J (Engl)*, 13 (10), 1214-1219. Doi: 10.4103/0366-6999.231515.

183. Zhukova, A. G., Mikhailova, N. N., Sazontova, T. G., Zhdanova, N. N., Kazitskaya, A. S., Bugaeva, M. S., ... Arkhipenko, Y. V. (2020). Participation of free-radical processes in structural and metabolic disturbances in the lung tissues caused by exposure to coal-rock dust and their adaptogenic correction. *Bull Exp Biol Med*, 168 (4), 439-443. Doi: 10.1007/s10517-020-04727-7.

184. 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, 1-7. (18) DOI: 10.3390/toxins12060356

ДОДАТКИ

Додаток А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Serhii Shchypanskyi, Oleksandr Maievskyi, Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko, Nataliia Raksha, Tetiana Halenova...& Olexii Savchuk (2024). Proteostasis collapse in rat's lung tissue as one of the effects of European adder (*Vipera berus* subsp. *berus* and *Vipera berus* subsp. *nikolskii*) envenomation. *Curr Issues Pharm Med Sci.*, 37, 4, 195-199. <https://doi.org/10.2478/cipms-2024-0032>
2. Lasavutz, V. S., Yaremenko, L. M., Butska, L. V., Lavrynenko, V. Y., & Zhehulovych, Z. Y. (2024). Morphological state of lungs of rats under the influence of *Vipera berus* *berus* venom. *Reports of Morphology*, 30(2), 69-75. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(2)-09)
3. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to *Vipera berus nikolskii* venom. *Morphologia*, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>
4. Lasavutz VS. (2024). Analysis of morphometric parameters of lung tissue under conditions of exposure to the venom of the vipers *Vipera berus berus* and *Vipera berus nikolskii*. *Morphologia*, 18(4), 61-65. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.61-65>
5. Lasavutz V. S. (2025). Features of ultrastructural changes in rat lungs under the conditions of the action of *vipera berus* viper venom. «Перспективи та інновації науки» (Серія «Медицина»), 2(48), 1906-1916. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2\(48\)-1906-1916](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2(48)-1906-1916)

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

6. Ласавуц В.С., Сокурєнко Л.М. & Маєвський Є.О. (2022). *Токсичний ефект отрут гадюк на протеолітичні процеси у тканинах легень*. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «Екологічні та гігієнічні проблеми сфери життєдіяльності людини», Київ, 16 березня 2022 року – Київ – С. 112.

7. Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko & Oleksandr Maievskyi (2022). *Protein homeostasis of lung tissue under the influence of Vipera berus berus and Vipera berus nikolskii poison*. 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists, Istanbul, 5–7 August 2022 – Istanbul, Türkiye – P. 122.

8. Ласавуц В. С., Маєвський О. Є., & Яременко Л. М. (2023). *Вплив отрути гадюки Vipera berus berus та Vipera nikolskii на клітинний склад легень щурів*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, Київ, 8 - 9 червня 2023 – Київ – С. 124.

9. L. Sokurenko, V. Lasavutz & O. Maievskyi (2023). *Peptide changes in lung tissue under the influence of Vipera berus berus and berus nikolskii venom*. The 47th FEBS Congress, Paris, 8 – 12 July 2023 – Paris, France. – P. 209.

10. Vladislav Lasavutz, Oleksandr Maievskyi & Liudmyla Sokurenko (2024). *Proteolytic activity of vipera berus berus and Berus nikolskii venom on lung tissue*. Biochem, Strasbourg, 18–19 April 2024 – Strasbourg, France – P. 59.

Апробація результатів дисертації:

- «Protein homeostasis of lung tissue under the influence of Vipera berus berus and Vipera berus nikolskii poison» Abstracts of the 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists 5–7 August 2022, Istanbul, Türkiye

- Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю присвяченій пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Ю.Б. Чайковського «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» (м. Київ, 2023) – стендова доповідь.

- «Peptide changes in lung tissue under the influence of Vipera berus berus and berus nikolskii venom» FEBS Open Bio 13 (Suppl.2) Volume 13 Supplement 2 July 2023- стендова доповідь.

Додаток Б1

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи

Тернопільського національного
медичного університету

імені І. Я. Горбачевського

Міністерства охорони здоров'я
України

д. б. н., проф. Іван КЛІЩ

« _____ » _____ 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії «Гістологічні та біохімічні зміни в легенях щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*».
- 2. Установа-розробник та автор:** Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, Ласавуц Владислав Сергійович, аспірант кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.
- 3. Пропозиція до впровадження:** Вперше встановлено, що за умов впливу отрути гадюки степової спостерігаються значні зміни судинного, стромального та перенхіматозного компонентів, відбувається перебудова судинного русла, з формуванням коагулопатій, тромбозів; підвищення проникності стінки судин супроводжується розвитком ДВЗ-синдрому та крововиливами; в стінці бронхів та респіраторному відділі легень виявляються запальні явища, скупчення пінистих макрофагів. За умов впливу отрути гадюки Нікольського встановлено глибокі деструктивно-дегенеративні зміни судин, бронхів та респіраторного відділу з розвитком ДВЗ-синдрому значних площ запалення, різними формами коагулопатій та дифузними і локальними крововиливами, що викликає збільшення середнього показника площі судин, середніх значень площі бронхів і лімфоїдної тканини, а також зниження середнього значення площі респіраторного відділу.
- 4. Актуальність дослідження:** Патологія структур легень в умовах сучасного світу є надзвичайно поширеним явищем. Ускладнення з боку дихальної системи зустрічаються при серцево-судинних, ревматологічних, онкологічних захворюваннях тощо. Протягом останніх років серед наукової спільноти поширеним є термін «стресорних легень», що характеризує цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних змін в бронхо-легеневій системі при дії факторів екзо- чи ендогенного походження. Однак і досі не розкрита повна картина морфологічних змін в тканині легень при дії стресорних чинників, таких як отруєння токсинами природного походження. Конкретні компоненти зміїних токсинів, механізми їх дії та те, як вони завдають шкоди внутрішнім органам, залишаються неясними. Процеси, які призводять до пошкодження легеневої тканини, не були повністю вивчені, залишаючи прогалину в знаннях щодо морфологічних змін, що спостерігаються на різних рівнях спостереження. До того, на даний момент немає даних про вплив токсинів *V. berus* на числені функції і структури дихальної системи.

Таким чином, подальше дослідження цієї теми має важливе значення для покращення ранньої діагностики, запобігання ускладнень і вдосконалення стратегій лікування.

5. Джерела інформації:

1. Lasavutz, V. S., Yaremenko, L. M., Butska, L. V., Lavrynenko, V. Y., & Zhehu-lovych, Z. Y. (2024). Morphological state of lungs of rats under the influence of Vipera berus berus venom. Reports of Morphology, 30(2), 69-75. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(2)-09)

2. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to Vipera berus nikolskii venom. Morphologia, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>

6. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.

7. Форма впровадження: у навчальний процес - в матеріали лекцій і практичних занять для студентів медичного та стоматологічного факультетів та в наукову роботу кафедри.

8. Термін впровадження: березень-квітень 2025 року.

9. Зауваження та пропозиції: немає.

10. Протокол засідання кафедри № 3 від 13 березня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри гістології та ембріології

Тернопільського національного

медичного університету

імені І. Я. Горбачевського

Міністерства охорони здоров'я 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: “Гістологічні та біохімічні зміни в легенях щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*”.

1. Автор: Ласавуц Владислав Сергійович, аспірант кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

2. Пропозиція до впровадження: При біохімічному дослідженні зразків крові та гомогенатів легень щурів вперше доведено, що потенційний вплив зміїних отрут *Vipera berus* на стан протеїнового метаболізму тканини легень викликає значне зниження рівня загального протеїну, утворюються протеїни середньої та низької молекулярної маси, яких взагалі не існує в нормі. На фоні дії отрути *Vipera berus* Nikolskii виникає розщеплення відносно більших кількостей високомолекулярних ферментів з одночасним утворенням більшої кількості ферментативних фракцій з меншою молекулярною масою. Відносний вміст молекул середньої маси значно зростає.

3. Актуальність дослідження: Патологія структур легень в умовах сучасного світу є надзвичайно поширеним явищем. Ускладнення з боку дихальної системи зустрічаються при серцево-судинних, ревматологічних, онкологічних захворюваннях тощо. Протягом останніх років серед наукової спільноти поширеним є термін «стресорних легень», що характеризує цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних змін в бронхо-легеневій системі при дії факторів екзо- чи ендогенного походження. Однак і досі не розкрита повна картина морфологічних змін в тканині легень при дії стресорних чинників, таких як отруєння токсинами природного походження. Конкретні компоненти зміїних токсинів, механізми їх дії та те, як вони завдають шкоди внутрішнім органам, залишаються неясними. Процеси, які призводять до пошкодження легеневої тканини, не були повністю вивчені, залишаючи прогалину в знаннях щодо морфологічних змін, що спостерігаються на різних рівнях спостереження. До того, на даний момент немає даних про вплив токсинів *V. berus* на числені функції і структури дихальної системи. Таким чином, подальше дослідження цієї теми має важливе значення для покращення ранньої діагностики, запобігання ускладнень і вдосконалення стратегій лікування.

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

5. Джерела інформації:

Serhii Shchypanskyi, Oleksandr Maievskyi, Vladyslav Lasavutz, Liudmyla Sokurenko, Nataliia Raksha, Tetiana Halenova...& Olexii Savchuk (2024). Proteostasis collapse in rat's lung tissue as one of the effects of European adder (*Vipera berus* subsp. *berus* and *Vipera berus* subsp. *nikolskii*) envenomation. *Curr Issues Pharm Med Sci.*, 37, 4, 195-199. <https://doi.org/10.2478/cipms-2024-0032>

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

Початок впровадження: _____ 2025 р.

Протокол засідання кафедри №__ від _____ 2025р.

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



Олексій САВЧУК



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
проф. Вікторія СЕРГІЄНКО
10. 04 2025 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: “Гістологічні та біохімічні зміни в легенях щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus*”.

1. Автор: Ласавуц Владислав Сергійович, аспірант кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше встановлено, що за умов впливу отрути гадюки степової спостерігаються значні зміни судинного, стромального та перенхіматозного компонентів, відбувається перебудова судинного русла, з формуванням коагулопатій, тромбозів; підвищення проникності стінки судин супроводжується розвитком ДВЗ-синдрому та крововиливами; в стінці бронхів та респіраторному відділі легень виявляються запальні явища, скупчення пінистих макрофагів. За умов впливу отрути гадюки Нікольського встановлено глибокі деструктивно-дегенеративні зміни судин, бронхів та респіраторного відділу з розвитком ДВЗ-синдрому значних площ запалення, різними формами коагулопатій та дифузними і локальними крововиливами, що викликає збільшення середнього показника площі судин, середніх значень площі бронхів і лімфоїдної тканини, а також зниження середнього значення площі респіраторного відділу.

3. Актуальність дослідження: Патологія структур легень в умовах сучасного світу є надзвичайно поширеним явищем. Ускладнення з боку дихальної системи зустрічаються при серцево-судинних, ревматологічних, онкологічних захворюваннях тощо. Протягом останніх років серед наукової спільноти поширеним є термін «стресорних легень», що характеризує цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних змін в бронхо-легеневій системі при дії факторів екзо- чи ендогенного походження. Однак і досі не розкрита повна картина морфологічних змін в тканині легень при дії стресорних чинників, таких як отруєння токсинами природного походження. Конкретні компоненти змінних токсинів, механізми їх дії та те, як вони завдають шкоди внутрішнім органам, залишаються неясними. Процеси, які призводять до пошкодження легеневої тканини, не були повністю вивчені, залишаючи прогалину в знаннях щодо морфологічних змін, що спостерігаються на різних рівнях спостереження. До того, на даний момент немає даних про вплив токсинів *V. berus* на числені функції і структури дихальної системи. Таким чином, подальше дослідження цієї теми має важливе значення для покращення ранньої діагностики, запобігання ускладнень і вдосконалення стратегій лікування.

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

5. Джерела інформації:

1. Lasavutz, V. S., Yaremenko, L. M., Butska, L. V., Lavrynenko, V. Y., & Zhehulovych, Z. Y. (2024). Morphological state of lungs of rats under the influence of *Vipera berus berus* venom. *Reports of Morphology*, 30(2), 69-75.
[https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(2)-09)

2. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to *Vipera berus nikolskii* venom. *Morphologia*, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>

6. Ким і коли впроваджено: Кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
Початок впровадження: квітень 2025 р.

Протокол засідання кафедри № 13 від 10 квітня 2025 р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у наукову роботу кафедри.

8. Соціально-економічний ефект: підвищення рівня підготовки наукових кадрів.

Завідувач кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
д.мед.н., професор



Зоряна МАСНА

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи

Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
проф. Ірина СОЛОНИНКО

2025 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: “ Гістологічні та біохімічні зміни в легенях щурів при впливі отрути гадюк виду *Vipera berus* ”.

1. Автор: Ласавуц Владислав Сергійович, аспірант кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше встановлено, що за умов впливу отрути *Vipera berus berus*, на субмікроскопічному рівні спостерігались значні ультраструктурні зміни стінки альвеол. Суттєво змінено ультраструктурний стан альвеолоцитів II типу – порушення цитоплазми та клітинного ядра. Виявлено деформовані пластинчасті тільця, осміофільний вміст фрагментований або однорідний. В просвіті альвеол виявляється значна кількість альвеолярних макрофагів. На тлі впливу отрути *Vipera berus nikolskii* спостерігається пошкодження стінки гемокапілярів із складжами, стазами, тромбами та геморагіями. Респіраторні епітеліоцити зонально втрачають цілісність плазмолемми. Спостерігається зменшення числа секреторних, ламелярних тілець в цитоплазмі секреторних альвеолоцитів. Поодинокі визначаються щільні мультивезикулярні тільця. Відзначається наявність в інтерстиції плазмоцитів, значна кількість альвеолярних макрофагів.

3. Актуальність дослідження: Патологія структур легень в умовах сучасного світу є надзвичайно поширеним явищем. Ускладнення з боку дихальної системи зустрічаються при серцево-судинних, ревматологічних, онкологічних захворюваннях тощо. Протягом останніх років серед наукової спільноти поширеним є термін «стресорних легень», що характеризує цілий комплекс компенсаторно-приспосувальних змін в бронхо-легеневій системі при дії факторів екзо- чи ендогенного походження. Однак і досі не розкрита повна картина морфологічних змін в тканині легень при дії стресорних чинників, таких як отруєння токсинами природного походження. Конкретні компоненти змінних токсинів, механізми їх дії та те, як вони завдають шкоди внутрішнім органам, залишаються неясними. Процеси, які призводять до пошкодження легеневої тканини, не були повністю вивчені, залишаючи прогалину в знаннях щодо морфологічних змін, що спостерігаються на різних рівнях спостереження. До того, на даний момент немає даних про вплив токсинів *V. berus* на числені функції і структури дихальної системи. Таким чином, подальше дослідження цієї теми має важливе

значення для покращення ранньої діагностики, запобігання ускладнень і вдосконалення стратегій лікування.

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

5. Джерела інформації:

1. Lasavuts, L. S. (2025). Features of ultrastructural changes in rat lungs under the conditions of the action of vipera berus viper venom. «Перспективи та інновації науки» (Серія «Медицина»), 2(48), 1906-1916. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2\(48\)-1906-1916](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-2(48)-1906-1916);

2. Lasavutz V. S. (2024). The morphological state of the lungs of rats exposed to Vipera berus nikolskii venom. *Morphologia*, 18(3), 55-59. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.55-59>.

6. Ким і коли впроваджено: Кафедра гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Початок впровадження: січень 2025 р.

Протокол засідання кафедри №1 від 30 січня 2025 р.

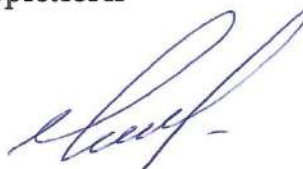
7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

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

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

к.мед.н., доцент



Ілона ЧЕЛПАНОВА