

УДК 57.021:615.919

DOI: 10.15587/2519-4984.2018.148075

ВПЛИВ СЕКРЕТІВ ШКІРНИХ ЗАЛОЗ АМФІБІЙ НА ПОКАЗНИКИ ХРОНОМЕТРИЧНИХ ТЕСТІВ

© І. В. Удовиченко, Ю. В. Дудкіна, Д. М. Олійник, О. С. Осирко, О. Ю. Марущак, Т. І. Галенова

Зважаючи на надзвичайно високі показники поширеності, ранню інвалідизацію та смертність від захворювань, пов'язаних з порушенням функціонування системи гемостазу, пошук нових підходів щодо профілактики та лікування цих станів є актуальним питанням сучасної біохімії. Відомо, що активні компоненти отрути рептилій активно використовуються у терапії даних недуг, однак дослідження впливу секрету шкірних залоз амфібій на систему гемостазу досі не були проведені. Ще менше науково обґрунтованої інформації можна зустріти щодо природи та механізмів дії біологічно-активних компонентів секрету шкірних залоз представників вітчизняної фауни. Тому **метою** даної роботи було оцінити вплив секретів шкірних залоз представників класу земноводних, поширених на території України, на функціонування коагуляційної ланки системи гемостазу.

Методи. Було отримано секрету шкірних залоз десяти найпоширеніших українських видів амфібій: *B. bombina*, *B. variegata*, *B. bufo*, *B. viridis*, *R. temporaria*, *P. ridibundus*, *P. esculentus*, *P. fuscus*, *S. Salamandra* та гібриду *B. bombina* та *B. variegata*. Час зсідання плазми крові у тестах активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), за дії секретів шкірних залоз досліджуваних видів амфібій, визначали *in vitro* та фіксували на коагулометричному аналізаторі (Rayto RT-2201C, Китай), використовуючи стандартні набори реагентів (RENAM, Російська Федерація).

Результати. Було встановлено, що компоненти секретів шкірних залоз амфібій видів *B. bombina*, *B. variegata*, їх гібриду, *R. temporaria* та *P. ridibundus* продовжували час утворення фібринового згустку у тесті АЧТЧ. Компоненти секретів шкірних залоз амфібій видів *B. viridis*, *P. esculentus*, *P. fuscus* та *S. salamandra* продовжували час зсідання плазми у тесті ТТ.

Висновки. Отримані результати можуть бути обумовлені наявністю у секретах шкірних залоз досліджуваних видів амфібій інгібіторів певних факторів коагуляційного гемостазу, або можуть бути пов'язані з посиленням деградації компонентів коагуляційного гемостазу активними компонентами секретів. Такі результати доводять, що секрету земноводних є потенційним джерелом пошуку сполук-ефекторів системи гемостазу, що вказує на перспективність подальших досліджень у напрямку ідентифікації активних молекул та деталізації механізмів їх дії, з метою подальшого застосування цих сполук як основи для розробки нових, більш ефективних фармацевтичних агентів направленої дії

Ключові слова: амфібії, секрету шкірних залоз, шкірні отрути, хронометричні тести, коагуляційний гемостаз

1. Вступ

На сьогодні не лише в Україні, а й в усьому світі особливо гостро стоїть проблема захворювань, пов'язаних з порушеннями функціонування системи гемостазу. Медико-соціальне значення даних патологічних станів обумовлено високими показниками поширеності та великою частотою розвитку ускладнень, що, у свою чергу, є частою причиною ранньої інвалідизації та смертності хворих [1]. Незважаючи на широкий арсенал лікарських засобів, кількість хворих на такі захворювання прогресивно збільшується. Тому, в останні роки ведеться активний пошук нових медикаментозних підходів щодо профілактики та лікування станів, асоційованих з дисбалансом системи гемостазу [2]. Оскільки хімічний синтез новітніх біологічно-активних сполук в наш час є дуже складною та кошовною процедурою, серед нагальних потреб сучасної біохімії в галузі біомедичних досліджень особливо гостро постає проблема пошуку природних джерел як перспективної сировини для отримання різноманітних біологічно-активних агентів. Більш того, численні побічні ефекти, пов'язані з дією синтетичних лікарських препаратів, додатково

посилюють актуальність питання пошуку нових фармацевтичних агентів серед сполук саме природного походження.

Ще з давніх часів було відомо про терапевтичний потенціал секрету шкірних залоз різних видів земноводних [3], але тільки в наші дні ідентифікація біологічно-активних сполук у шкірних секретах амфібій та встановлення механізмів їх дії на організм набули особливої актуальності та стали перспективним напрямком досліджень у всьому світі.

2. Літературний огляд

Шкіра земноводних та її секрет, особливо отруйних видів, є надзвичайно цінним джерелом різноманітних, як вже встановлених, так і потенційних, фармацевтичних агентів [4, 5].

Амфібії мають два типи шкірних залоз: слизові та гранульовані. Слизові залози відносно рівномірно розміщуються по всьому тілу тварини. Їх секрет часто містить різноманітні глікопротеїни, наприклад муцин, залишки вуглеводів (галактозу, фруктозу, сіалову кислоту), та забезпечує вологе покриття, яке необхідне для газообміну через шкіру. Гранульовані за-

лози, які також називають серозними або отруйними залозами, частіше розміщуються навколо голови або шиї і, як правило, активуються у результаті стресу або травми [6]. Їх секрет варіює залежно від виду і може містити надзвичайно токсичні речовини. Саме виділення гранулярних залоз викликають найбільший інтерес в контексті даної роботи, оскільки вони є цінним джерелом потенційно корисних біологічно активних речовин.

Цілющі властивості екстрактів шкіри амфібій привертала увагу ще із давніх часів. Стародавні культури вірили у лікувальні властивості як самої шкіри земноводних, так і її секрету, використовуючи їх для приготування настоянок, що слугували лікарськими засобами від різноманітних захворювань, афродизіаками, контрацептивами, засобами, що попереджали безпліддя. Попіл, який отримували після спалювання шкіри земноводних, також використовували як джерело активних речовин при приготуванні лікарських відварів. Сьогодні ж вчені по всьому світу вивчають терапевтичний потенціал секретів різних видів амфібій [7].

Серед компонентів секрету слизових залоз амфібій вже охарактеризовано близько 100 сполук. Відомо, що шкірні залози земноводних багаті на біогенні аміни, пептиди, алкалоїди та стероїди.

Біогенні аміни в шкірних секретах представлені катехоламінами та індолациламінами. Такі представники ідолациламінів як буфотенін, буфовіридін, буфотіонін та дегідробуфотенін є досить потужними галюциногенними сполуками [8]. Одним з найактивніших біогенних амінів є буфотенін, який у малих дозах чинить тонізуючу дію, але збільшення концентрації призводить до погіршення симптомів викликаючи психоз за клінічною картиною близький до того, який виникає у результаті дії відомого галюциногена – диетиламіду лізергінової кислоти [9].

Основні групи пептидів – брадикініни, тахікініни та опіюїдні пептиди. Наслідком дії на організм перших двох може бути розширення судин і зниження артеріального тиску. Найбільш вивченими на сьогодні пептидами, виділеними з різних видів амфібій, є фізаланін, уперолеїн, церулеїн та бомбезин [10]. Особливий інтерес представляють опіюїдні пептиди – дерморфіни. Вони чинять знеболюючу дію, яка в 11 разів сильніше за дію морфіну [7]. Ще одним добре вивченим пептидом є перморфін. Унікальною особливістю його молекули є наявність у поліпептидному ланцюзі право обертаючого ізомера амінокислоти аланіну.

Найбільш різноманітною групою сполук стероїдної природи є буфодієноліди: буфалін, буфогенін, буфоталін, цинобуфагін, маринобуфагін та резібуфагін. Однією з таких сполук є батрахотоксин – найсильніша з відомих у наш час небілкових отрут, при тривалому введенні якої спостерігається сильна кардіотоксична та нейротропна дія. Також є дані про використання сполук буфодієнолідного ряду в якості місцевих анестетиків [11].

Одним із найбільш досліджених алкалоїдів є гістріонікотоксин, який діє на нервово-м'язову передачу в скелетних м'язах, блокуючи дію ацетилхоліну на Н-холінорецептори м'язів. Інша сполука – гефіро-

токсин – блокує М-холінорецептори гладкої мускулатури. Алкалоїди пуміліотоксини А, В і С полегшують перехід іонів Ca^{2+} через клітинні мембрани та посилюють секрецією медіаторів. Після потрапляння в організм ці сполуки можуть викликати судоми скелетної та дихальної мускулатури, і, як наслідок, смерть [12].

Територія України є місцем проживання ряду представників земноводних. Однак повідомлень щодо природи біологічно-активних компонентів секрету шкірних залоз представників вітчизняної фауни та механізмів їх дії небагато і вони містять мало науково обґрунтованої інформації. Тому дослідження біологічних ефектів секрету різних видів земноводних поширених на території України та вивчення їх компонентного складу є актуальним та перспективним напрямком наукових досліджень вітчизняної науки. Отримані результати можуть стати основою для розробки нових лікарських засобів з метою попередження, профілактики та лікування різних хвороб.

3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – оцінити вплив секретів шкірних залоз представників класу земноводних, поширених на території України, на функціонування коагуляційної ланки системи гемостазу.

Відповідно до мети були поставлені такі задачі:

1. Визначити час зсідання плазми крові у тесті активованій частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ) за дії компонентів секретів в шкірних залоз досліджуваних видів амфібій.
2. Визначити час зсідання плазми крові у тесті тромбіновий час (ТЧ) за дії компонентів секретів в шкірних залоз досліджуваних видів амфібій.
3. Визначити час зсідання плазми крові у тесті протромбіновий час (ПЧ), за дії компонентів секретів в шкірних залоз досліджуваних видів амфібій.

4. Матеріали та методи

Об'єктами дослідження було обрано секрети шкірних залоз найбільш поширених видів вітчизняної батрахофауни: *Bombina bombina* (n=20), *Bombina variegata* (n=20), гібрид видів *Bombina bombina* та *Bombina variegata* (n=5), *Bufo bufo* (n=15), *Bufo virescens* (n=10), *Rana temporaria* (n=10), *Pelophylax ridibundus* (n=8), *Pelophylax esculentus* (n=5), *Pelobates fuscus* (n=7) та *Salamandra salamandra* (n=5). Тварин відловлювали на території Київської області з подальшим розміщенням у фаунабоксах. Земноводних годували 2-3 рази на тиждень замороженим кормом на основі представників ряду *Orthoptera* і *Blattoptera* та личинками *Diptera*.

Секрет шкірних залоз отримували наступним чином: тварину поміщали в чашку Петрі, змочували дистильованою водою (у об'ємі близько 1 мл) та інтенсивно масажували паралельно повздовжньої осі тіла, тримаючи тварину в ділянці уростиля великим та вказівним пальцями. У результаті механічного подразнення шкіри вміст шкірних залоз секретувався на поверхню шкіри, після чого його змивали у чашку Петрі невеликою кількістю (близько 5 мл) дистильованої води. Дану процедуру повторювали 1–2 рази на тиждень.

Отримані водні суспензії шкірних секретів центрифугували при 3 тис. об./хв протягом 15 хв з метою відокремлення нерозчинного дебрису. Отриманий супернатант ліофільно висушували та зберігали при -20°C . Перед використанням ліофілізований секрет шкірних залоз земноводних розчиняли ультрадистильованою водою з розрахунку 30 мг сухої речовини на 1 мл води. Отримані суспензії ретельно ресуспендували та центрифугували 15 хв при 7 тис. об./хв. Отриманий супернатант одразу після центрифугування відбирали та використовували у подальших дослідженнях.

Плазму крові отримували згідно загальноприйнятій методиці. Всі процедури були проведені при кімнатній температурі. Кров для дослідження відбирали з вушної артерії здорового кроля в поліетиленову пробірку з 3,8 % розчином лимоннокислого натрію у співвідношенні 9:1. Після центрифугування стабілізованої крові за 1500 g протягом 30 хв при 20°C плазму відбирали у чисті пробірки.

Дослідження впливу компонентів шкірних секретів амфібій на час зсідання плазми крові у хронометричних тестах: активований частковий тромбластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ) проводили у експериментах *in vitro*. Час необхідний для утворення фібринового згустку фіксували на коагулометричному аналізаторі (Rayto RT-2201C, Китай), використовуючи стандартні набори реагентів (RENAM, Російська Федерація).

Для визначення часу зсідання плазми у тесті АЧТЧ у пластикову кювету коагулометра вносили 45 мкл плазми крові, 5 мкл відповідного зразка секрету шкірних залоз земноводних та 50 мкл АЧТЧ-реагенту. Після 3-х хвилинної інкубації за 37°C до суміші додавали 50 мкл $0,025\text{ M CaCl}_2$ та вимірювали час у секундах, необхідний для утворення згустку.

Для визначення часу зсідання плазми у тесті ТЧ у пластикову кювету коагулометра вносили 45 мкл плазми крові та 5 мкл зразка секрету шкірних залоз земноводних. Суміш інкубували за 37°C протягом 2 хв, після чого до неї додавали 100 мкл розчину тромбіну з активністю 3 МО/мл та фіксували час зсідання плазми у секундах.

Для визначення часу зсідання плазми у тесті ПЧ у пластикову кювету коагулометра вносили 45 мкл плазми крові та 5 мкл зразка відповідного секрету шкірних залоз. Суміш інкубували за 37°C протягом 2 хв, після чого до неї додавали 100 мкл тромбопластин-кальцієвого реагенту. Далі фіксували час, необхідний для утворення згустку у секундах.

Для кожного досліджуваного зразка хронометричні тести повторювали тричі, у паралелях, використовуючи плазму крові трьох різних кролів. Контролем для тестів була плазма, яку інкубували з усіма необхідними компонентами без зразків шкірних секретів земноводних.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми "Microsoft Excel 2003". Підраховували показники середньої арифметичної (M), середньої квадратичної помилки середньої арифметичної (m). Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стюдента (t). При цьому достовірними вважались різниці при $p < 0,05$.

5. Результати досліджень

Час зсідання плазми крові у хронометричних тестах активований частковий тромбластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ) за дії секретів шкірних залоз досліджуваних представників земноводних наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Час зсідання плазми крові у хронометричних тестах за умов дії шкірних секретів досліджуваних видів земноводних

	АЧТЧ, с	ПЧ, с	ТЧ, с
Контроль	18,6±2,6	7,0±0,1	28,2±4,3
<i>B. bombina</i>	62,7±14,3*	7,1±0,2	29,1±1,3
<i>B. variegata</i>	41,9±15,2*	6,9±0,1	29,1±0,7
Гібрид <i>B. bombina</i> x <i>B. variegata</i>	62,6±10,7*	7,0±0,2	28,9±3,4
<i>B. bufo</i>	20,8±3,1	6,8±0,5	30,9±1,6
<i>B. viridis</i>	21,0±0,8	7,2±0,2	39,1±1,6*
<i>R. temporaria</i>	50,8±8,3*	6,8±0,1	29,4±2,1
<i>P. ridibundus</i>	58,1±16,6*	7,0±0,1	30,2±0,8
<i>P. esculentus</i>	17,3±0,1	6,8±0,2	34,2±1,1*
<i>P. fuscus</i>	17,8±0,2	7,0±0,2	34,3±0,3*
<i>S. salamandra</i>	18,1±1,9	6,9±0,1	35,9±0,5*

Примітка: * – $p \leq 0,05$ різниця у порівнянні з контролем

У результаті даного експерименту було встановлено продовження часу зсідання плазми у тесті АЧТЧ у 3,4 та 2,3 рази за умов інкубації плазми з шкірними секретами видів *B. bombina* та *B. variegata*, відповідно. Було показано, що гібрид даних видів амфібій також подовжував показники даного тесту в 3,4 рази, порівняно з контролем. Час зсідання плазми

крові у тесті АЧТЧ був також подовжений у 2,7 та 3,1 рази, порівняно з контролем, за умов інкубації плазми з секретами шкірних залоз амфібій видів *R. temporaria* та *P. ridibundus*, відповідно. Компоненти шкірних секретів інших досліджуваних представників не чинили вплив на зсідання плазми крові у тесті АЧТЧ.

Було відмічено подовження часу зсідання плазми у тесті ТЧ за умов впливу компонентів секрету шкірних залоз видів *B. viridis* та *S. salamandra* відповідно у 1,4 та 1,3 рази, порівняно з контролем. Також незначне подовження часу зсідання було показано за умов інкубації плазми з секретами шкірних залоз видів *P. esculentus* і *P. fuscus*.

Під час дослідження ПЧ не було показано статистично значущих змін у часі зсідання плазми крові за умов її інкубації з секретами шкірних залоз усіх досліджуваних видів амфібій.

6. Обговорення результатів

Для діагностики стану системи зсідання крові ефективно використовуються хронометричні тести. До найпоширеніших лабораторних тестів належать визначення тромбінового часу, протромбінового часу та активованого часткового тромбoplastинового часу.

Коагуляційний гемостаз є каскадом ферментативних реакцій, які перетворюють неактивні попередники на активні фактори. Запуск кожного із двох шляхів коагуляційного гемостазу (зовнішнього та внутрішнього) призводить до утворення фібрину.

Дослідження часу зсідання у тестах АЧТЧ, ПЧ, ТЧ дає змогу оцінити вплив компонентів шкірних секретів амфібій на певні фактори коагуляційної ланки системи гемостазу. Наприклад, результати АЧТЧ тесту вказують на функціонування коагуляційних факторів залучених у внутрішній шлях згортання крові, таких як XII, IX, XI, VIII, X, V, протромбіну та фібриногену [13]. Визначення ПЧ дає змогу оцінити функціонування таких факторів як V, VII та X зовнішнього шляху коагуляційного гемостазу, а також встановити час, необхідний для генерування фібрину після активації фактора VII [13]. Результати тесту ТЧ показують час, необхідний фібриногену для утворення фібринових ниток і дають змогу оцінити

порушення на останніх ланках коагуляційного гемостазу [14].

У результаті проведеного експерименту було встановлено, що компоненти секретів шкірних залоз ряду досліджуваних видів амфібій значно подовжували час необхідний для утворення фібринового згустку у тестах АЧТЧ та ТЧ. Отримані результати з одного боку можуть бути обумовлені наявністю у секретах інгібіторів певних факторів коагуляційного гемостазу. З іншого боку, такі дані можуть бути пов'язані з посиленням деградації компонентів коагуляційного гемостазу активними компонентами секретів. Остання гіпотеза, зокрема, корелює з нашими попередніми дослідженнями, під час яких було доведено, що секрети шкірних залоз певних видів мають виражену протеолітичну активність з різною субстратною специфічністю [15].

Такі результати доводять, що секрети земноводних є потенційним джерелом пошуку сполук-ефекторів системи гемостазу, що вказує на перспективність подальших досліджень у напрямку ідентифікації активних молекул та деталізації механізмів їх дії, з метою подальшого застосування цих сполук як основи для розробки нових, більш ефективних фармацевтичних агентів направленої дії.

7. Висновок

1. Компоненти секретів шкірних залоз видів *B. bombina*, *B. variegata*, їх гібриду, а також *R. Temporaria* та *P. ridibundus* значно подовжували час зсідання плазми крові у тесті АЧТЧ.

2. Компоненти секретів шкірних залоз видів *B. viridis*, *P. esculentus*, *P. fuscus* та *S. salamandra* мали пролонгуючий ефект на час утворення фібринового згустку у тесті ТЧ.

3. Компоненти секретів шкірних залоз усіх досліджуваних видів амфібій не виявили статистично значущих змін у часі зсідання плазми крові у тесті ПЧ.

Література

1. Challenges in secondary prevention of cardiovascular diseases / Piepoli M. F. et. al. // International Journal of Cardiology. 2015. Vol. 180. P. 114–119. doi: <http://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.11.107>
2. Yusuf S. Improving worldwide access to inexpensive and effective treatments for common cardiovascular diseases // European Heart Journal Supplements. 2018. Vol. 20. P. 18–22. doi: <http://doi.org/10.1093/eurheartj/suy005>
3. Clarke B. T. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications // Biological Reviews. 2007. Vol. 72, Issue 3. P. 365–379. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1469-185x.1997.tb00018.x>
4. Xu X., Lai R. The Chemistry and Biological Activities of Peptides from Amphibian Skin Secretions // Chemical Reviews. 2015. Vol. 115, Issue 4. P. 1760–1846. doi: <http://doi.org/10.1021/cr4006704>
5. Primary structure of tryptophan-containing peptides from skin extracts of *Phyllomedusa rhodei* (tryptophyllins) / Montecucchi P. C. et. al. // International Journal of Peptide and Protein Research. 2009. Vol. 23, Issue 3. P. 276–281. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1984.tb02720.x>
6. Barberio C., Delfino G., Mastromei G. A low molecular weight protein with antimicrobial activity in the cutaneous “venom” of the yellow-bellied toad (*Bombina variegata pachypus*) // Toxicon. 1987. Vol. 25, Issue 8. P. 899–909. doi: [http://doi.org/10.1016/0041-0101\(87\)90250-9](http://doi.org/10.1016/0041-0101(87)90250-9)
7. Bioactive molecules from amphibian skin: Their biological activities with reference to therapeutic potentials for possible drug development / Gomes A. et. al. // Indian Journal of Experimental Biology. 2007. Vol. 45, Issue 71. P. 579–590.
8. Erspamer V. Biogenic amines and active polypeptides of amphibian skin // Biological reviews of the Cambridge Physiological Society. 1999. Vol. 172, Issue 3. P. 211–220.
9. Biological Effects and Biodistribution of Bufotenine on Mice / Vigerelli H. et. al. // BioMed Research International. 2018. Vol. 2018. P. 1–10. doi: <http://doi.org/10.1155/2018/1032638>
10. Cei J. M., Erspamer V., Roseghini M. Taxonomic and Evolutionary Significance of Biogenic Amines and Polypeptides Occurring in Amphibian Skin. I. Neotropical Leptodactylid Frogs // Systematic Zoology. 1967. Vol. 16, Issue 4. P. 328–342. doi: <http://doi.org/10.2307/2412152>
11. Antimicrobial activity of the bufadienolides marinobufagin and telocinobufagin isolated as major components from skin secretion of the toad *Bufo rubescens* / Cunha Filho G. A. et. al. // Toxicon. 2005. Vol. 45, Issue 6. P. 777–782. doi: <http://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.01.017>

12. Daly J. W., Highet R. J., Myers C. W. Occurrence of skin alkaloids in non-dendrobatid frogs from Brazil (Bufonidae), Australia (Myobatrachidae) and Madagascar (Mantellinae) // *Toxicon*. 1984. Vol. 22, Issue 6. P. 905–919. doi: [http://doi.org/10.1016/0041-0101\(84\)90182-x](http://doi.org/10.1016/0041-0101(84)90182-x)
13. Anti-thrombotic effect of chronic oral treatment with *Orbignya phalerata* Mart / Azevedo A. P. S. et. al. // *Journal of Ethnopharmacology*. 2007. Vol. 111, Issue 1. P. 155–159. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.005>
14. Koch E., Biber A. Treatment of rats with the *Pelargonium sidoides* extract EPs® 7630 has no effect on blood coagulation parameters or on the pharmacokinetics of warfarin // *Phytomedicine*. 2007. Vol. 14. P. 40–45. doi: <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.11.026>
15. Amphibian skin secretions: a potential source of proteolytic enzymes / Nikolaieva I. et. al. // *Biotechnologia Acta*. 2018. In press.

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Савчук О. М.
Дата надходження рукопису 02.10.2018*

Удовиченко Ірина Вячеславівна, аспірант, кафедра біохімії, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: irisha.nikolaeva@gmail.com

Дудкіна Юлія Валеріївна, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: yuliiadudkina@gmail.com

Олійник Денис Миколайович, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: oleynikdenis3007@gmail.com

Оскірко Олександра Станіславівна, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: sashaoskirko@gmail.com

Марущак Олексій Юрійович, аспірант, Відділ моніторингу і охорони тваринного світу, Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена Національної академії наук України, вул. Б. Хмельницького, 15, м. Київ, Україна, 01030
E-mail: vse_okei@bigmir.net

Галенова Тетяна Іванівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Науково-дослідна лабораторія «Фізико-хімічної біології», Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: galenovatanya@rambler.ru