

Міністерство освіти і науки України  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**АМІНОВ РУСЛАН ФЛУЗОВИЧ**



УДК: 599.323.41:595.143:57.083.3(043.3)

**ВПЛИВ ГІРУДОПУНКТУРИ ТА ЕКСТРАКТУ З ТКАНИН МЕДИЧНОЇ  
П'ЯВКИ НА ІМУННУ РЕАКТИВНІСТЬ САМИЦЬ ТА ПРИПЛОДУ ЩУРІВ  
У ПОСТЕМБРІОНАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗИ**

03.00.09 – імунологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету МОН України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Фролов Олександр Кирилович**,  
Запорізький національний університет,  
професор кафедри фізіології,  
імунології і біохімії з курсом  
цивільного захисту та медицини;

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, доцент  
**Гаврилюк Анна Мирославівна**,  
Львівський національний медичний  
університет імені Данила Галицького,  
доцент кафедри клінічної імунології  
та алергології;

доктор медичних наук, професор  
**Чернуський В'ячеслав Григорович**,  
Харківський національний університет  
імені В. Н. Каразіна,  
завідувач кафедри педіатрії.

Захист дисертації відбудеться 19 грудня 2018 року о 13<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.24 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.24

З дисертацією можна ознайомитися у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала № 12

Автореферат розісланий: «13» листопада 2018 року

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.24



Н. Г. Ракша

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Використання медичних п'явок (МП) при гірудотерапії (ГТ) обумовлено широким спектром терапевтичної дії їх біологічно активних речовин (БАР): регуляцією гемостазу та судинного тону, протизапальним, регенераційним, нейротропним, бактеріостатичним, імуномодуляторним ефектами [Hildebrandt J.P. and Lemke S., 2011; Abdul K.Y. et. at., 2016; Егорова С. Н. и Гарифулина Г.Х., 2016; Enrico V. et.al., 2017]. МП є одним із продуцентів понад 100 унікальних БАР, що не мають аналогів у світі та необхідні в сучасній ветеринарії та медицині — гірудин, егліни, бделіни, ферменти (гіалуронідаза, дестабілаза, колагеназа, апіраза, еластаза) [Егорова С.Н. и Гарифулина Г.Х., 2016; Yanmei L. et al., 2016; Uwe W. et.al., 2016; Ayşe S.G. and Naim S., 2016; Francesca L.V. and Martin R.L., 2017]. БАР МП загалом здійснюють гомеостатичну дію на організм [Uwe W. et.al., 2016; Cengiz A. and Fatih D., 2017]. ГТ позитивно впливає на стан ендотеліальної функції, антиоксидантний захист, процеси ліпопероксидації та деяких цитокінів [Захарова О.А., 2008]. МП мають лімфостимуляторний вплив, позитивно впливають на інтерстиціальний гуморальний транспорт та лімфатичний дренаж тканин при реабілітації хворих ішемічною хворобою серця середнього та похилого віку [Боровая Е.П., 2008]. У низці досліджень показано, що секрет слинних залоз МП посилює знижену фагоцитарну активність нейтрофілів (ФАН) та гальмує активність системи комплементу [Зельоний І.І.и др., 2010; Фролов А.К. и др., 2011]. МП чинять активаторний вплив на спонтанну та стимульовану проліферацію лімфоцитів периферичної крові. МП нормалізують цитокіновий профіль крові [Зельоний І.І. и др., 2010; Хабаров А.С. и др., 2010]. Зокрема, знижують концентрацію фактору некрозу пухлин (ФНП- $\alpha$ ), ІЛ-6, ІЛ-4 у сироватці крові після проведеної гірудотерапії. Крім того, знижують спонтанну продукцію ІЛ-1 та ФНП- $\alpha$  в культурі моноклеарних клітин, а стимульовану, навпаки, підвищують [Хабаров А.С. и др., 2010]. МП проявляють протизапальну дію при ГТ, при цьому знижують показник абсолютної кількості нейтрофілів, підвищують вміст лізосомально-катіонних білків у цих клітинах, що свідчить про нормалізацію стану їх кисневонезалежної системи та активацію механізмів місцевого неспецифічного імунного захисту [Pavlova I.B., 2015; Lee Y.C., 2015; Ayhan H., 2017]. Вище зазначене дозволяє зробити висновок про те, що значна частина терапевтичних ефектів ГТ опосередковані через її імуномодуляторний вплив [Фролов А.К. и др., 2011; Sobczak N., 2014; Joslin J., 2017]. Відомо, що людина та водопійні тварини (в основному копитні) мутуалістично адаптовані до БАР МП, у процесі тривалої коеволуції при гірудологічних контактах, тому ГТ забезпечує широкий спектр терапевтичних ефектів практично в відсутності побічних негативних наслідків. Кількість протипоказань до ГТ мінімальна – це патологія гемостазу, онкологічна патологія, а також, за даними деяких авторів - вагітність [Башкирцева Н. А., 2008; Коритнюк Р., 2009; Тюкин О. А., 2016]. Численні дослідницькі групи гірудотерапевтів [Baskova I. P., 2015; Лялина Е. Г., 2016; Stokoz K. Yu., 2016; Valerio E., 2017] вважають зазначені протипоказання незначущими, та допускають превентивні приставки МП при загрозі розвитку тромбофлебиту, гестозів, вважаючи,

що ГТ спричиняє поліпшення кровопостачання тканин матері та плоду. Зареєстровано позитивний вплив МП на регенераційні процеси при гірудотерапії [Попов Н. С. и др., 2014; Бургонский В. Г. и Юркина А. В., 2016]. У сучасній екологічній обстановці сільськогосподарські тварини страждають від імунодефіциту. Для підтримки імунного гомеостазу у вагітних тварин, необхідного для успішної гестації та отримання ефективного, продуктивного приплоду застосовують імуномодулятори рослинного, бактеріального та тваринного походження. МП мають імуномодуляторну активність гомеостатичного характеру, тому можуть розглядатися, як перспективні препарати для застосування в тваринництві.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана на кафедрі фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету МОН України в рамках науково-дослідної теми «Біотехнологія перспективних кільцеців з вивченням імуотропної дії їх біологічно активних речовин» (№ д/р 0117U000704).

**Мета і задачі дослідження.** Дослідити функціональний стан імунної системи статевозрілих нелінійних самиць щурів, які піддавалися впливу слини та водно-сольового екстракту тканин *Hirudo verbana* в передкоїтальний та після коїтальний періоди, та функціональний стан імунної системи їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

Для досягнення мети були поставлені наступні **задачі**:

1. Дослідити вплив слини та водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana*, застосованих у перед- та після коїтальному періодах, на фізичні параметри тіла, морфометричні та цитоморфологічні показники лімфоїдних органів самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

2. Вивчити вплив слини та водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana*, застосованих у перед- та після коїтальному періодах, на мітотичний індекс кісткового мозку самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

3. Провести дослідження впливу слини та водно-сольового екстракту тканин *Hirudo verbana*, застосованих у перед- та після коїтальному періодах, на гематологічні показники самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

4. Проаналізувати вплив слини та водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana*, застосованих у перед- та після коїтальному періодах, на поглинальну (фагоцитоз) активність та оксидативний метаболізм нейтрофілів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

5. Провести дослідження впливу слини та водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana*, застосованих у перед- та після коїтальному періодах, на проліферативну активність лімфоцитів самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

*Об'єкт дослідження* – імуномодуляторні ефекти слини та водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*

*Предмет дослідження* – популяційний склад лейкоцитів периферичної крові, поглинальна (фагоцитарна) активність та оксидативний метаболізм нейтрофілів; проліферативна активність лімфоцитів; мітотичний індекс кісткового мозку;

морфометричні та морфологічні характеристики первинного та вторинного лімфоїдних органів самиць та їх приплуду в постембріональному онтогенезі, за впливу слини та водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*.

*Методи дослідження:* у роботі були використанні імунологічні, гематологічні, морфометричні, гістологічні, статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Розширено існуючі уявлення стосовно імуномодуляторного впливу слини та водно-сольового екстракту з тканин МП, застосованих у передкоїтальному та після коїтальному періодах, асоційованого з посиленням репродуктивної ефективності у тварин.

Уперше встановлено, що стандартизований водно-сольовий екстракт та слина *Hirudo verbana*, застосовані в передкоїтальному та після коїтальному періодах нелінійним статевозрілим самицям щурів, чинять виразну стимуляторну дію на їх імунну систему та імунну реактивність їх приплуду в постембріональному онтогенезі: збільшується кількість циркулюючих лейкоцитів, посилюється поглинальна активність та оксидативний метаболізм нейтрофілів, підвищується проліферативна активність лімфоцитів та кісткового мозку.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані експериментальні результати вказують на те, що слина та стандартизований водно-сольовий екстракт з тканин *Hirudo verbana* викликають стимуляцію імунної системи самиць та їх приплуду, асоційовану зі збільшенням ваги останнього, що може бути використано у ветеринарії, для підвищення репродуктивної ефективності свійських тварин.

Розроблено пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин (патент України на корисну модель №107289 від 25.05.2016) та спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів (патент України на винахід №116579 від 10.04.2018), які можуть бути використані в фундаментальних та прикладних імунологічних дослідженнях.

Матеріали дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрах: фізіології, імунології та біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету МОН України; гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету МОЗ України; органічної та біологічної хімії Мелітопольського державного педагогічного університету імені Б. Хмельницького, що підтверджено актами впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто проаналізовано наукову літературу за темою роботи, самостійно виконано експериментальні дослідження та підготовку матеріалів до публікації. За участі співавторів публікацій проведено інтерпретацію отриманих результатів. Планування експериментальних робіт, аналіз та обговорення отриманих результатів проведено спільно з науковим керівником д.м.н., професором Фроловим О.К.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертації були представлені на вітчизняних та міжнародних конференціях: IV Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» з всеукраїнською участю (Запоріжжя, 2015); V Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та

перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» (Запоріжжя, 2016); IX Університетській науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Молода наука-2016» (Запоріжжя, 2016); XV Всеукраїнській науковій конференції з очно-заочною участю «Актуальні питання біології та медицини» (Старобільськ, 2017); Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації - 2017», присвячена Дню науки (Запоріжжя, 2017); Всеукраїнській науковій конференції з дистанційною участю «Актуальні питання біології та медицини» (Суми, 2017); IV Міжнародній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Наука и медицина: современный взгляд молодежи» (Казахстан, 2017); V Міжнародній науково-практичній конференції Присвяченої 30-річчю біологічного факультету Запорізького національного університету (Запоріжжя, 2017); LXX Міжнародній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Актуальные проблемы современной медицины и фармации-2017» (Білорусь, 2017); IV Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» (Дніпропетровськ, 2017); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Нові досягнення в імунології та алергології» (Київ, 2017); Другому симпозиумі міжнародній асоціації гірудотерапевтів і гірудологів (Болгарія, 2017); Науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г. В., Роменського О. Ю., Когана Б. Й., Шапаренка П. П., Жученка С. П. (Вінниця, 2017); III Міжнародній науковій конференції «Мікробіологія і імунологія – перспективи розвитку в XXI столітті» (Київ, 2018).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 24 наукові праці, у тому числі 4 статті у фахових виданнях, що входять до переліку МОН України, 3 статті у зарубіжних фахових виданнях, 1 стаття у нефаховому виданні, 14 публікацій у збірниках наукових праць, збірниках матеріалів і тезах науково-практичних конференцій, конгресів, з'їздів, форумів, отримано 1 патент на корисну модель та 1 патент на винахід.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, двох розділів результатів власних досліджень та їх обговорення, аналізу та узагальнення цих розділів, висновків, списку використаних літературних джерел та додатку. Робота викладена на 149 сторінках (з них 113 сторінок основної частини), ілюстрована 10 таблицями та 14 рисунками. Перелік використаних літературних джерел складається з 313 найменувань, з них кирилицею – 210, латиницею – 103.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

### **Матеріали та методи дослідження.**

Для досягнення мети й вирішення завдань, поставлених у роботі було виконане експериментальне дослідження на білих нелінійних лабораторних статевозрілих самицях щурів (n=80), віком 4 місяці, їх приплоді (n=400) в постембріональному онтогенезі на 1, 15, 30, 45 та 60-ту добу. Тварин утримували в

віварії біологічного факультету Запорізького національного університету за стандартних умов щодо температури (21-23°C), освітлення (12/12 год), вологості (30–35%). Маніпуляції з тваринами проводили з дотриманням регламентованих норм і правил поводження з лабораторними тваринами, що засвідчено висновком комісії з біоетики біологічного факультету «Запорізький національний університет» (протокол № 1 від 22 березня 2018 р., голова комісії — доктор біологічних наук, професор О. А. Бражко). Стандартизований водно-сольовий екстракт *Hirudo verbana* отримували за О. К. Фроловим [Фроловим О. К., 2013], з визначенням концентрації білка в екстракті за методом Лоурі [Меньшиков В. В., 1987].

Дослідження загальних імуноотропних ефектів МП *Hirudo verbana* проводили в два етапи:

**I етап** — дослідження імуноотропних ефектів слини МП *Hirudo verbana* в експерименті на лабораторних нелінійних білих щурах-самицях (робили чотириразову приставку по 1 голодній МП, один раз на тиждень): двічі до спарювання (передкоїтальний період) та двічі – після спарювання (після коїтальний період) та їх припліді в динаміці онтогенезу за гірудовпливу. Тварини були поділені з використанням принципу рандомізації на 2 підгрупи, кожна з яких містила по 20 щурів-самиць: контрольна та дослідна.

**II етап** — вивчення імуноотропних ефектів стандартизованого водно-сольового екстракту з тканини МП на щурах-самицях (внутрішньочеревно вводили 4 рази, один раз на тиждень в об'ємі 0,5 мл (концентрація білка 2 мг/мл) з кінцевою концентрацією речовини 5 мкг/г тварини за наступною схемою: двічі до спарювання (перикоїтальний період) та двічі – після спарювання (після коїтальний період) та їх припліді в динаміці онтогенезу. Тварини були поділені на 2 підгрупи, кожна з яких містила по 20 щурів-самиць: контрольна та дослідна.

Стан імунної системи самиць характеризували після вигодовування та відсадки від них їх приплоду, а їх приплід в динаміці онтогенезу: на 1, 15, 30, 45 та 60-ту добу. Для характеристики функціонального стану імунної системи оцінювали морфометричні, морфологічні та цитологічні показники лімфоїдних органів, загальну кількість лейкоцитів та еритроцитів, вміст гемоглобіну, лейкоцитарну формулу крові, проліферативну активність лімфоцитів крові, функціональну активність нейтрофілів: поглинальну (фагоцитарну) активність та оксидативний метаболізм. Для характеристики фізичного стану організму характеризували морфометричні параметри тіла (масу, довжину тіла та хвоста, окружність грудної клітки та живота).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням параметричних статистичних методів (t-критерій Ст'юдента), попередньо перевіривши вибірки на нормальність розподілу, при цьому значення в таблицях представлені у вигляді  $X \pm SE$ , де  $X$  – вибіркове середнє,  $SE$  – стандартна помилка середнього, за допомогою пакету прикладних програм Microsoft XP «Excel» та IBM SPSS Statistics 21,0 (USA). Відмінності вважали достовірними при рівні значимості  $p < 0,05$  [Лакин Г. Ф., 1990; Dunn O. J., Clark, 2009]. Виявлення зв'язку між показниками оцінювали за результатами кореляційного аналізу; коефіцієнт кореляції Пірсона ( $r$ ) використовували для оцінки зв'язку між кількісними показниками.

## Результати досліджень та їх обговорення

**Вплив слини медичної п'явки, застосованої самицям щурів у перед- та після коїтальному періодах, на їх імунну реактивність та імунний статус приплоду в динаміці постембріонального онтогенезу.**

*Гематологічні показники, морфометричні характеристики тіла та лімфоїдних органів приплоду в постембріональному онтогенезі за гірудовпливу статевозрілих самиць щурів у передкоїтальному та після коїтальному періодах.* У дослідних самиць щурів, які були виведені з експерименту після вигодовування та відсадки від них приплоду, в більшості термінах збільшувалися всі фізичні параметри тіла, але найбільша амплітуда приросту відзначалася для показників маси тіла, що мабуть могло відбутися за рахунок підвищення маси лімфоїдних органів. Застосування гірудовпливу (ГВ) самицям у передкоїтальному та після коїтальному періодах було асоційоване зі збільшенням маси їх приплоду в динаміці постнатального онтогенезу. Найбільші зміни в масі приплоду тварин дослідної групи порівняно з контрольною групою тварин, зареєстровані в підсисному періоді, тобто на 15-ту добу (15,2%) та у період початку (на 30-ту добу – 24,2%), а також у кінці статевого дозрівання (на 60 добу – 13,8%). Отримані дані можуть свідчити про позитивний ефект ГВ на ефективність грудного вигодовування та формування гормональних систем приплоду [Фролов О.К. та ін., 2010]. При аналізі лімфоїдних органів (тимусу та селезінки) самиць щурів, котрі зазнали ГВ у передкоїтальному періоді, зареєстровано збільшення масових показників тимусу на 34,5% та селезінки - на 19,8%, ( $p < 0,05$ ). У приплоду різного періоду онтогенезу зареєстроване збільшення всіх морфометричних показників лімфоїдних органів. Максимальне збільшення реєструється при аналізі їх вагових показників. При аналізі тимусу: на 15 добу – 28,12%, на 30 добу – 49,83% та 45-ту добу 16,87%. Аналізуючи вагові показники селезінки: на 15 добу – 50,39%, на 30 добу – 49,78% та 45-ту добу – 54,81% ( $p < 0,05$ ). Також, слід відмітити, що самиці в середньому народжували більшу кількість приплоду (9-12 щурят), вони були активніші у порівнянні з контрольною групою (6-7 щурят). Застосування ГВ самицям білих щурів у передкоїтальний та після коїтальний періоди спричиняло зміни кількісних показників лейкоцитів периферичної крові, еритроцитів та вмісту гемоглобіну. Кількість лейкоцитів у крові самиць, котрі зазнали ГВ, була збільшена на 54%, кількість еритроцитів - на 24%, вміст гемоглобіну - на 16% ( $p < 0,05$ ). У той час, як лейкоцитарна формула крові залишалася в межах фізіологічних норм. У приплоду різного періоду онтогенезу контрольної групи, досліджені показники гемограми знаходилися в референтних межах для даного віку. В приплоду самиць, котрі зазнали ГВ, зареєстровано збільшення абсолютної кількості циркулюючих лейкоцитів на всіх етапах постнатального онтогенезу, а також збільшення вмісту гемоглобіну, статистично вірогідне лише до досягнення тваринами пубертатного періоду. Слід відмітити, що незважаючи на вірогідне збільшення кількісного показника циркулюючих лейкоцитів у приплоду тварин, котрі зазнали ГВ в передембріональній та ембріональній періоди розвитку, відсутнє відхилення лейкоцитарної формули крові від фізіологічних меж.

Поглиняльна активність та оксидативний метаболізм нейтрофілів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. При дослідженні фагоцитарної активності нейтрофілів: під гірудовпливом фагоцитарний індекс (ФІ) збільшується в самиць та на першу добу в приплоду, а фагоцитарне число (ФЧ) збільшується на пізніх термінах постембріонального онтогенезу приплоду, порівняно з контрольною групою тварин (рис.1).

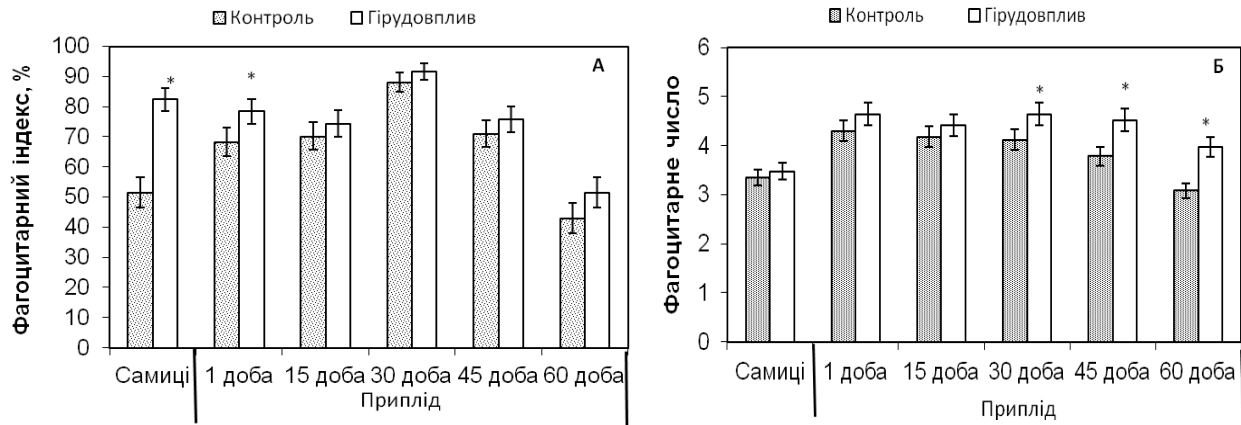


Рис. 1. Фагоцитарний індекс (А) та фагоцитарне число (Б) нейтрофілів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі після гірудовпливу. Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із контрольною групою;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Такі зміни показників фагоцитарної активності нейтрофілів пов'язані з активацією вродженого імунітету під впливом біологічно активних речовин (БАР) МП, і відповідають даним інших авторів [Каменев О.Ю., 2006, Боровая Е.П., 2008, Фролов О.К., 2010]. При дослідженні оксидативного метаболізму нейтрофілів нами зареєстроване достовірне збільшення у спонтанній реакції на всіх термінах дослідження ( $p < 0,05$ ) та навантажувальній із тенденцією до збільшення в самиць та приплоду на першу добу (рис. 2).

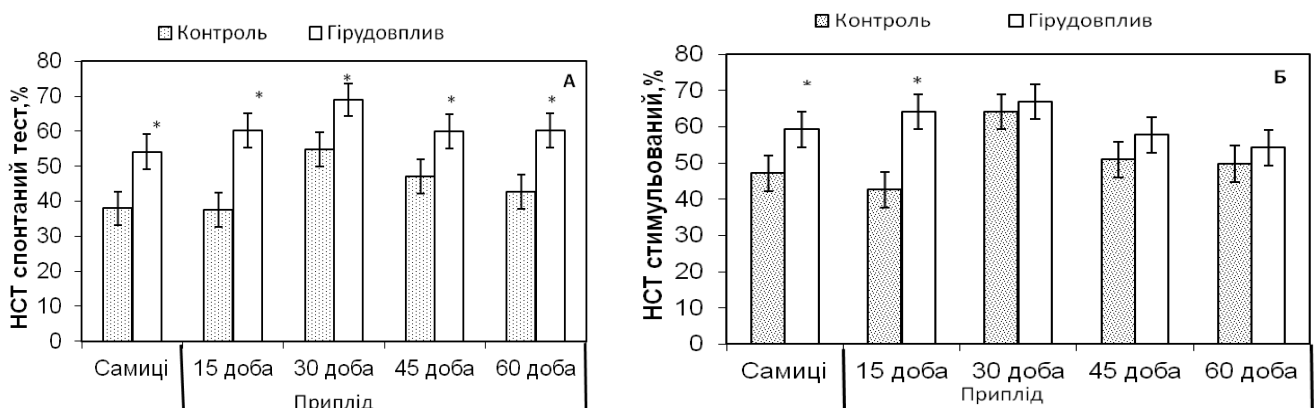


Рис. 2. Спонтанний (А) та стимульований (Б) оксидативний метаболізм нейтрофілів крові самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі після гірудовпливу. Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із контрольною групою;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Отримані дані свідчать, про позитивний вплив МП на оксидативний метаболізм поліморфноядерних фагоцитів та метаболічний резерв цієї їх функції.

Слід зазначити, що стимуляторний ефект на оксидативний метаболізм нейтрофілів спостерігався у потомства навіть у віддалені терміни після проведення ГВ в самиць.

Проліферативна активність лімфоцитів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. У статевозрілих самиць щурів зареєстроване значне збільшення відсотку бласттрансформованих лімфоцитів при стимуляції рослинним мітогеном та водно-сольовим екстрактом медичної п'явки (рис. 3) порівняно зі спонтанними культурами в дослідних та контрольних групах тварин ( $p < 0,05$ ). Так, у контрольній групі на стимуляцію КонА (конкавалін А) спостерігали зростання бласттрансформованих лімфоцитів, яке становило 65,20 % відносно спонтанній культурі, при стимуляції екстрактом тканин МП - 75,13%, а у дослідній групі при стимуляції КонА зростання бласттрансформованих лімфоцитів на 51,87 %, при стимуляції екстрактом тканин МП на 65,32% відносно спонтанним. При дослідженні приплоду в контрольних групах значне підвищення на стимуляцію КонА ( $p < 0,05$ ), а при стимуляції екстрактом тканин МП, культура статистично не відрізнялась від спонтанних культур. При порівнянні груп між собою, у дослідній групі, у всіх культурах крові статевозрілих самиць та їх приплоду на всіх етапах розвитку значне збільшення бластнотрансформованих лімфоцитів, порівняно з контрольною групою тварин ( $p < 0,05$ ). У досліді реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) на стимуляцію екстрактом тканин МП наближалися до показників, як на рослинному лектині КонА. РБТЛ морфологічно відрізнялася. Бласти, стимульовані рослинним лектином, були типові за морфологією. При стимуляції екстрактом тканин МП бласти мали недостатньо розвинену цитоплазму та знижену її базофільність, як результат недостатнього розвитку білок-синтетичної системи.

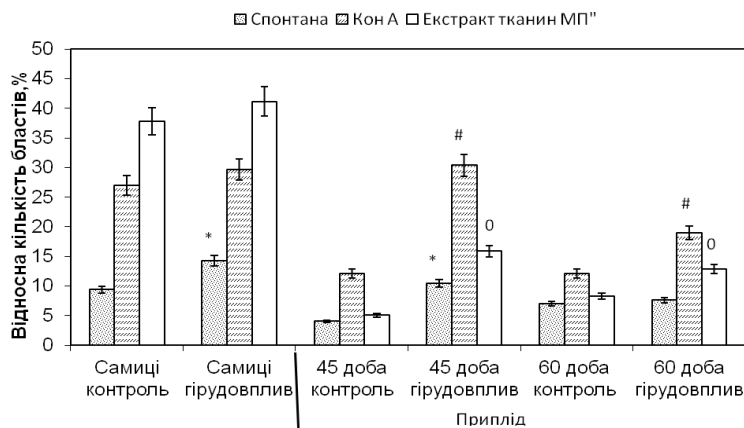


Рис. 3. Проліферативна активність лімфоцитів крові самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі після гірудовпливу. Спонтанна – без додавання стимуляторів, Кон А – культура з додаванням рослинного мітогену, екстракт тканин МП – культура з додаванням водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із спонтанними культурами контрольної групи, # -  $p < 0,05$  порівняно із Кон А культурами контрольної групи, 0 -  $p < 0,05$  порівняно із екстракт тканин МП контрольної групи.

У культурах, в які додавали екстракт із тканин МП, стимульовані лімфоцити мали признаки апоптозу. В таких культурах також часто зустрічались некротичні лімфоцити у вигляді дифузних оксифільних плям. Апоптоз та некроз лімфоцитів може свідчити, про протизапальну дію п'явки.

Мітотичний індекс кісткового мозку самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. При дослідженні проліферативної активності клітин кісткового мозку, відмічено збільшення мітотичного індексу в самиць та їх приплоду на всіх термінах досліджу (p<0,05). Отримані данні свідчать, що МП стимулюють гемопоез (рис. 4).

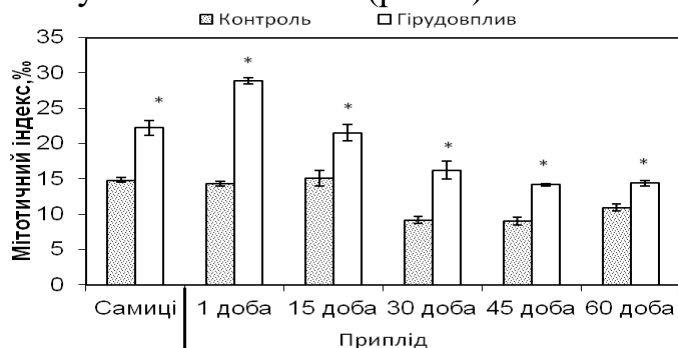
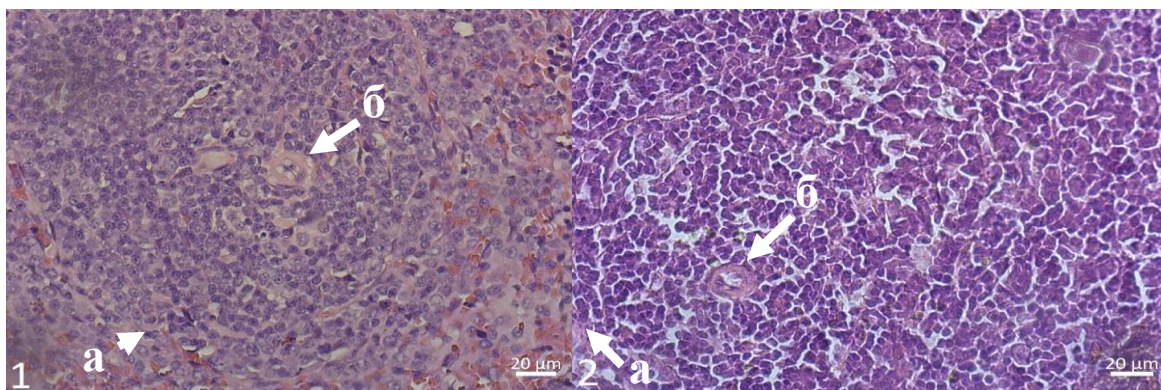


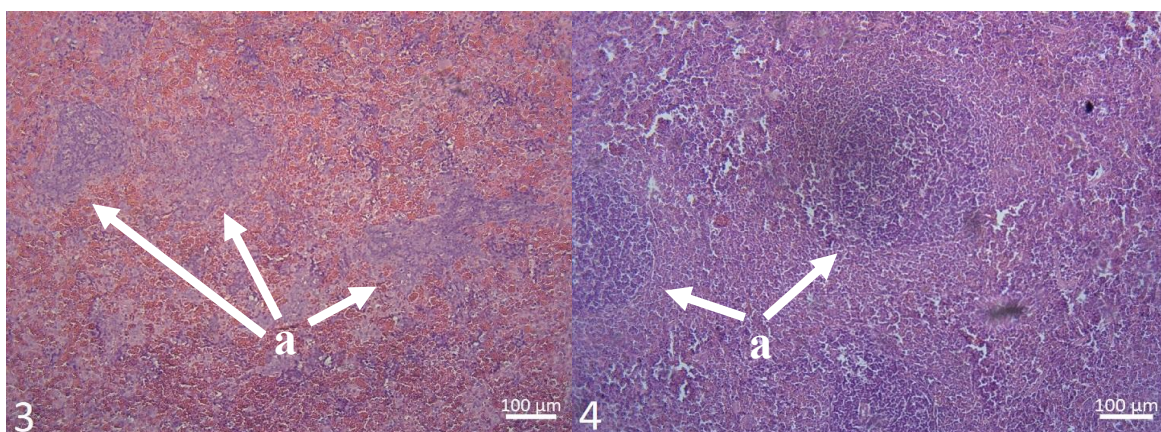
Рис. 4. Проліферативна активність кісткового мозку самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі після гірудовпливу. Примітка: \* - p<0,05 порівняно із контрольною групою; n = 20 для кожної підгрупи тварин.

Цитоморфологічні показники селезінки та тимусу статевозрілих самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. При дослідженні морфології селезінки приплоду щурів-самиць, що зазнали гірудовпливу, зареєстроване збільшення площі лімфоїдних фолікулів за рахунок збільшення кількості клітин у їх складі (рис. 5). Відмічено також переважання білої пульпи (рис. 5).



1 – Контроль 45 доба ЛФ

2 – Гірудовплив 45 доба ЛФ



3 – Контроль 45 доба селезінка

4 – Гірудовплив 45 доба селезінка

Рис. 5. Гістологічний препарат селезінки приплоду самиць щурів, котрі зазнали впливу *Hirudo verbana* в перед- та після коїтальному періодах (1, 2, 5, 6 збільшення – x 600, 3, 4, 7, 8 – x100). Примітка: а – лімфоїдний фолікул, б – артерія, ЛФ – лімфоїдний фолікул; n = 20 для кожної підгрупи тварин.

Аналіз кількості лімфоцитів у кірковій та мозковій ділянках тимусу приплоду самиць, що зазнали гірудовпливу, виявив їх збільшення, більш виразне в кірковій ділянці. Це може вказувати на посилення міграції незрілих тимоцитів із кісткового мозку, як наслідок стимуляції процесів гемопоезу.

**Вплив водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana*, застосованого самицям щурів у перед- та після коїтальному періодах, на їх імунну реактивність та імунний статус приплоду в динаміці постембріонального онтогенезу.**

*Гематологічні показники, морфометричні характеристики тіла та лімфоїдних органів приплоду в постембріональному онтогенезі за впливу водно-сольового екстракту з тканин *Hirudo verbana* статевозрілим самицям щурів у передкоїтальному та після коїтальному періодах.* Уведення водно-сольового екстракту з тканин медичної п'явки самицям щурів, в цілому не викликало істотних змін у прирості маси тіла їх приплоду та маси лімфоїдних органів.

Слід відмітити, що самиці також, як при гірудологічному впливі в середньому народжували більшу кількість приплоду (9-11 щурят), вони були теж активніші, в порівнянні з контрольною групою (5-6 щурят).

Порівняльний аналіз лейкоцитарної формули крові у дослідних групах самиць щурів не виявив системних відмінностей від фізіологічних норм. Підвищувався вміст гемоглобіну (на 23,56%).

Позитивні зміни імунних органів сприяли підвищенню показників лейкоцитів та еритроцитів у крові дослідженої групи щурів. Так, статистично значуще підвищення кількості лейкоцитів у самиць (на 41,02%) та приплоду на 15-ту (на 26,67%), 60-ту (на 37,5%) добу  $p < 0,05$ . Кількість еритроцитів у дослідній групі приплоду збільшувалася на 15-ту (на 35%) та 30-ту (на 26,31%) добу  $p < 0,05$ .

Паралельно з кількістю еритроцитів підвищувався рівень гемоглобіну, з достовірним значущим відхиленням від контролю на першу (на 30,91%) добу  $p < 0,05$ .

При аналізі відносного співвідношення популяцій лейкоцитів у лейкоцитарній формулі крові, не зареєстрований негативний вплив МП на гомеостатичну диферинційовку лейкоцитів у мієлопоезі та лімфопоезі в дослідній групі тварин, лейкоцитарна формула крові була в межах фізіологічних норм.

*Поглиняльна активність та оксидативний метаболізм нейтрофілів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.* Кількість фагоцитуючих нейтрофілів у крові самиць, що зазнали впливу від екстракту тканин МП, та їх приплоду істотно не змінювалася, тільки в самиць та у приплоду на першу добу.

Зате вірогідно зростав показник інтенсивності фагоцитозу (фагоцитарне число) у клітин приплоду на всіх термінах спостереження (рис. 6).

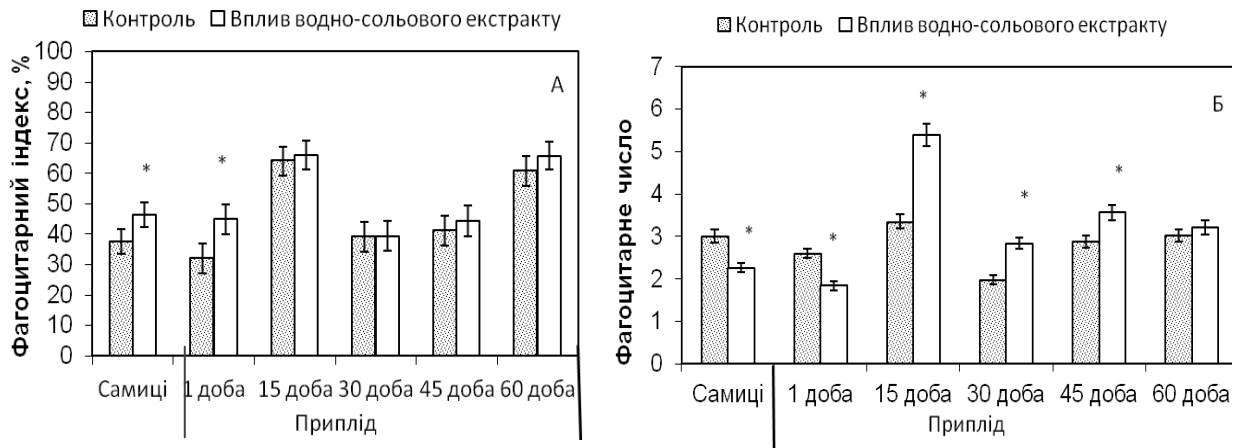


Рис.6. Фагоцитарний індекс (А) та фагоцитарне число (Б) у самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі за впливу водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*. Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із контрольною групою;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

При дослідженні оксидативного метаболізму нейтрофілів нами зареєстроване достовірне збільшення цього показника у спонтанній реакції, як у самиць, так і у їх приплоду (рис. 7). Зареєстровано також посилення стимульованої продукції активних форм кисню.



Рис. 7. Спонтанний (А) та стимульований (Б) оксидативний метаболізм нейтрофілів крові самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі за впливу водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*. Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із контрольною групою;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Такі зміни показників фагоцитарної активності та оксидативного метаболізму нейтрофілів пов'язані з активацією вродженого імунітету під впливом МП.

*Проліферативна активність лімфоцитів крові самиць та їх приплоду в постембріональному онтогенезі.* У результаті дослідження, в статевозрілих самиць щурів контрольної та дослідної груп тварин, при стимуляції рослинним мітогеном та екстрактом тканин п'явки, збільшується відсоток бластних клітин (рис.8). Так, на стимуляцію КонА - 61,27%, на екстракт тканин медичної п'явки - 37,33% у контрольній групі, відносно спонтанним культурам, а у дослідній групі відносно

спонтанним культурам, КонА на 62,55% та екстракт тканин МП на 64,28%. Таку ж тенденцію до збільшення виявлено і у їх приплоду на всіх етапах дослідження. У дослідній групі статевозрілих самиць та у їх приплоду на всіх етапах розвитку порівняно з контрольною групою, у всіх культурах крові значне збільшення бластотрансформованих лімфоцитів ( $p < 0,05$ ). Збільшена реакція лімфоцитів на екстракт із тканин п'явки *Hirudo verbana* вказує на його поліклональну активацію, як і на рослинний лектин. Так, у статевозрілих самиць реакція бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) на екстракт тканин МП, як у контрольній групі так і у дослідній, значно перевищували спонтанні культури ( $p < 0,05$ ). Таку ж динаміку відмічали і у їх приплоду. РБТЛ на екстракт тканин МП наближалися до показників, як на рослинному лектині КонА. РБТЛ, також морфологічно відрізнялися. Бласти, стимульовані рослинним лектином, були типові за морфологією. При стимуляції екстрактом тканин МП бласти мали недостатньо розвинену цитоплазму та знижену її базофільність, як результат недостатнього розвитку білок-синтетичної системи. У культурах в які додавали екстракт тканин МП стимульовані лімфоцити мали признаки апоптозу: цитопікноз, каріопікноз, вакуолізація ядра та цитоплазми. В таких культурах також часто зустрічались некротичні лімфоцити у вигляді оксифільних плям. Апоптоз та некроз лімфоцитів може, свідчити про протизапальну дію речовин п'явки.

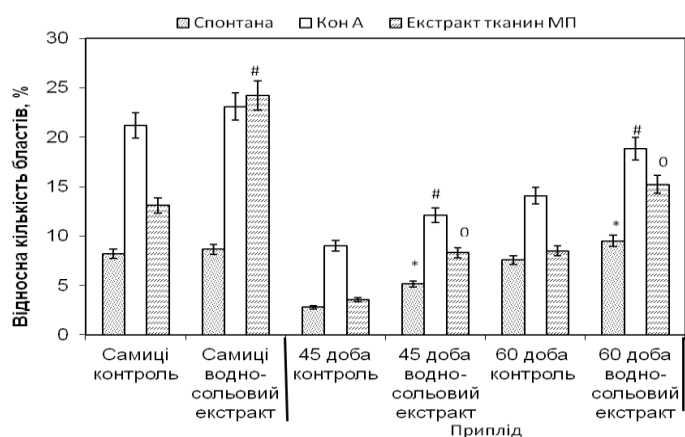


Рис. 8. Проліферативна активність лімфоцитів крові самиць шурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі за впливу водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*. Спонтана – без додавання стимуляторів, Кон А – культура з додаванням рослинного мітогену, екстракт тканин МП – культура з додаванням водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із спонтанними культурами контрольної групи, # -  $p < 0,05$  порівняно із Кон А культурами контрольної групи, <sup>0</sup> -  $p < 0,05$  порівняно із екстрактом тканин МП контрольної групи;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Разом з тим збільшення РБТЛ на екстракт тканин МП порівняно зі спонтанними культурами, можна пояснити наявністю загальних паттернів у структурній організації усіх видів Царств.

Мітотичний індекс кісткового мозку самиць шурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. Досліджуючи мітотичний індекс зареєстрована така ж тенденція до достовірного збільшення показників ( $p < 0,05$ ), як і при гірудовпливі порівняно з контрольною групою тварин (рис.9).

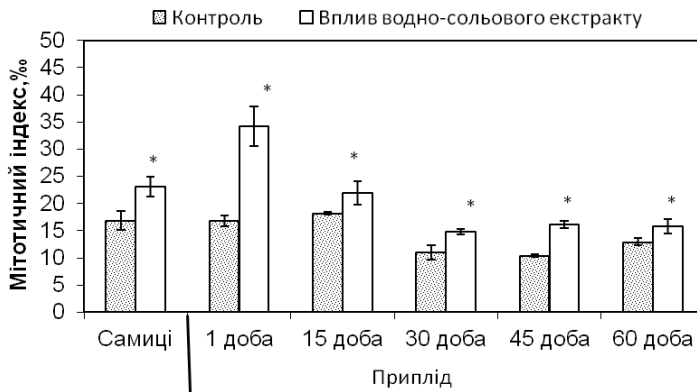
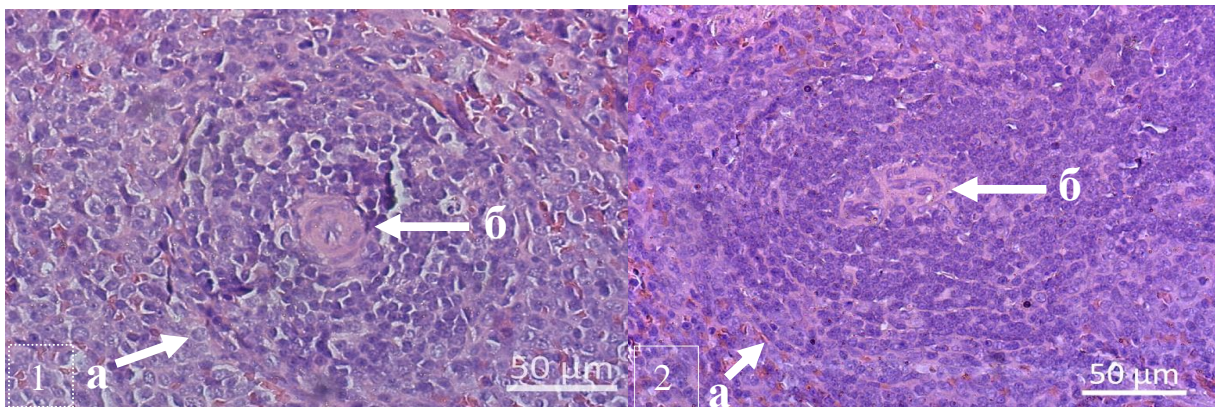


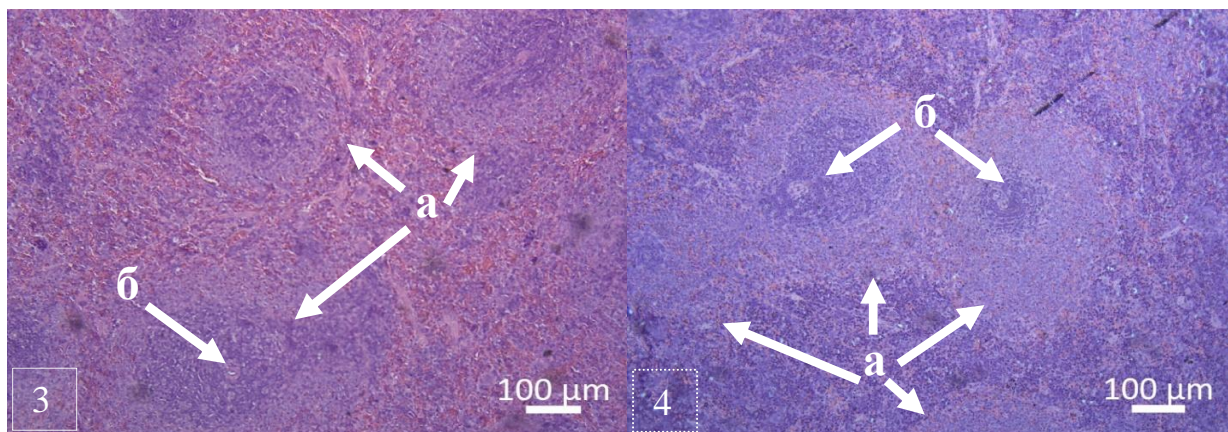
Рис. 9. Проліферативна активність кісткового мозку самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі за впливу водно-сольового екстракту *Hirudo verbana*. Примітка: \* -  $p < 0,05$  порівняно із контрольною групою;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин.

Цитоморфологічні показники селезінки та тимусу статевозрілих самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. При дослідженні цитоморфологічних показників у білій пульпі селезінки нами виявлено зміни морфології селезінки в приплоду самиць, котрим вводили водно-сольовий екстракт медичної п'явки, подібні до таких, що спостерігалися за гірудовпливу: збільшення площі лімфоїдного фолікулу за рахунок підвищеної кількості клітин у його складі, збільшення площі зрізу центральної артерії в ньому, переважання білої пульпи (рис. 10). Особливістю морфології селезінки в тварин цієї групи було збільшення кількості мегакаріоцитів, що свідчить про вплив екстракту медичної п'явки на тромбоцитопоез (рис. 11).



1 - Контроль 30 доба ЛФ

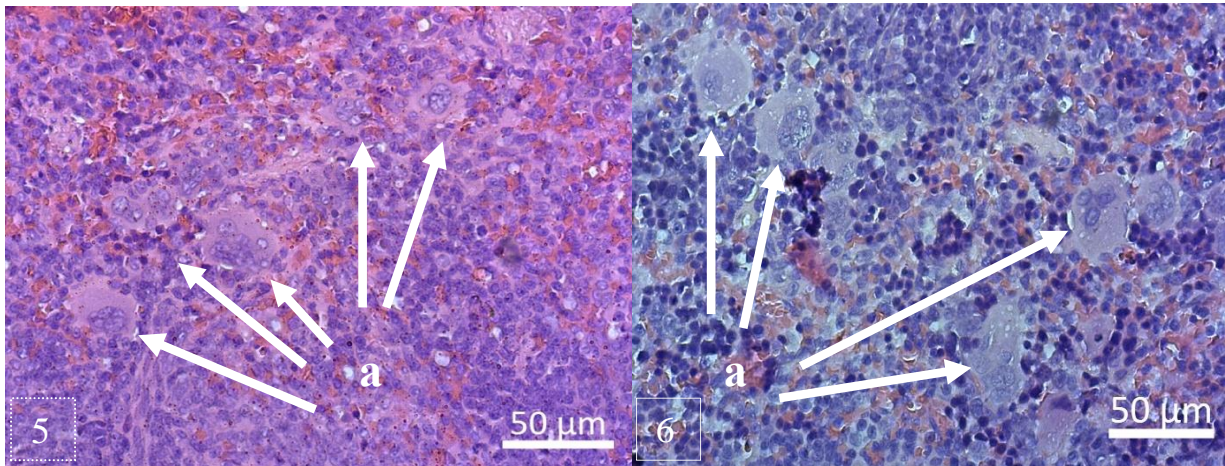
2 - Екстракт МП 30 доба ЛФ



3- Контроль 30 доба селезінка

4- Екстракт МП 30 доба селезінка

Рис. 10. Гістологічний препарат селезінки приплоду самиць щурів, котрі зазнали впливу водно-сольового екстракту *Hirudo verbana* у перед- та післякоїтальному періодах (1, 2 збільшення -  $\times 600$ , 3, 4 -  $\times 100$ ). Примітка: а - лімфоїдний фолікул, б - артерія;  $n = 20$  для кожної підгрупи тварин, ЛФ - лімфоїдний фолікул.



5- Екстракт МП 30 доба мегакаріоцити 6 Екстракт МП 60 доба мегакаріоцити

Рис. 11. Гістологічний препарат селезінки приплоду самиць щурів, котрі зазнали впливу водно-солового екстракту *Hirudo verbana* у перед- та посткоїтальному періодах (5, 6 збільшення - х600). Примітка: а – мегакаріоцити; n = 20 для кожної підгрупи тварин.

Кількість лімфоцитів на одиницю площі кіркової ділянки тимусу приплоду щурів, котрим вводили екстракт медичної п'явки, була лише помірно збільшена, порівняно з контролем. Аналогічний показник для медулярної ділянки взагалі не відрізнявся від контролю. Це вказує на менш виразний імуностимуляторний ефект екстракту тканин медичної п'явки, порівняно з гірудовпливом.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальне наукове завдання – досліджено вплив медичної п'явки на імунну реактивність самиць щурів та їх приплоду в постембріональному онтогенезі. Встановлено, що медичні п'явки посилюють, як вроджену, так і адаптивну імунну реактивність тварин, що супроводжується підвищенням приросту маси приплоду.

1. Застосування гірудовпливу самицям щурів у перед- та після коїтальному періоді супроводжується збільшенням показника приросту маси їх приплоду в динаміці онтогенезу, в середньому на 14,1%, порівняно з контролем. Введення водно-сольового екстракту *Hirudo verbana* не викликає значних змін приросту маси приплоду.

2. Гірудовплив та введення водно-сольового екстракту з тканин МП спричиняє збільшення кількості лімфоцитів у тимусі та лімфоїдних фолікулах селезінки, збільшення площі лімфоїдних фолікулів, переважання білої пульпи та збільшення частки мегакаріоцитів, порівняно з контролем.

3. Введення водно-сольового екстракту з тканин та застосування гірудовпливу самицям щурів спричиняє збільшення мітотичного індексу кісткового мозку в їх приплоду на 32,5% та 38% відповідно, порівняно з контролем.

4. Застосування гірудовпливу спричинило статистично вірогідне збільшення кількості циркулюючих лейкоцитів у самиць та їх приплоду на початкових стадіях

постембріонального онтогенезу, збільшення кількості циркулюючих еритроцитів у самиць, а також помірно збільшення рівня гемоглобіну в тварин. Уведення водно-сольового екстракту з тканин МП викликає вірогідне збільшення кількості циркулюючих лейкоцитів лише в самиць, помірно збільшення кількості еритроцитів у приплоду та збільшення рівня гемоглобіну у самиць та їх приплоду на початкових стадіях постембріонального онтогенезу, в середньому, на 21%.

5. Як введення водно-сольового екстракту з тканин, так і застосування гірудовпливу спричинило статистично вірогідне збільшення поглинальної активності нейтрофілів у самиць (на 19,35% та 37,5% відповідно), та у їх приплоду на початкових стадіях постембріонального онтогенезу (на 29% та 37% відповідно) порівняно з контролем. Введення водно-сольового екстракту з тканин та застосування гірудовпливу спричинило посилення оксидативного метаболізму нейтрофілів, як у самиць (на 41% та 30% відповідно), так і у їх приплоду на початкових стадіях постембріонального онтогенезу (на 25% та 27% відповідно) порівняно з контролем.

6. Застосування гірудологічного впливу та введення водно-сольового екстракту з тканин МП самицям спричинило посилення проліферативної відповіді їх лімфоцитів на екстракт медичної п'явки, а також спонтанної та стимульованої мітогеном проліферативної активності лімфоцитів у їх приплоду: спонтанної (на 38,64 та 27,34% відповідно), у відповідь на Кон-А (на 50,93% та 26% відповідно), у відповідь на екстракт тканин МП (на 53,64% та 48,42%).

## **СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

*Статті у фахових виданнях:*

1. Амінов РФ, Фролов ОК, Федотов ЄР. Морфометричні параметри тіла та імунологічних органів щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні гірудовпливу *Hirudo verbana* в передембріональний і ембріональний періоди розвитку. Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки. 2017; 1: 71-77. (Index Copernicus) *(Здобувачем особисто виконано дослідження, взята участь у аналізі результатів та написанні статті).*

2. Амінов РФ, Фролов ОК. Фагоцитарна та метаболічна активність нейтрофілів щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку за впливу біологічно активних речовин сольового екстракту *Hirudo verbana*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2016; 7: 96-100. (Web of Science) *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

3. Амінов РФ, Фролов ОК, Федотов ЄР, Макеева ЛВ. Морфометричні показники тіла щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу антигенів сольового екстракту медичної п'явки в передембріональний і ембріональний періоди розвитку. Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки. 2016; 1: 43-48. (Index Copernicus)

*(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

4. Амінов РФ, Фролов ОК. Проліферативна активність клітин кісткового мозку щурів за впливу біологічно активних речовин медичної п'явки. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017; 8 (4): 501-505. (Web of Science) *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, взята участь у морфологічних дослідженнях, здійснено аналіз результатів дослідження, написання статті).*

5. Aminov RF, Frolov AK. Influence of ectoparasite - *Hirudo verbana* on morphogenetic reactions of the host organism – *rattus*. *Current trends in immunology*. 2017; 18: 107-117. (SCOPUS) *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, взята участь у морфологічних дослідженнях, здійснено аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

6. Aminov RF, Frolov AK. The impact of fetal load of *Hirudo verbana* saline extract antigens morphometrical, hematological and immunological parameters of rats in the early stages of post-embryonic development. *Annals of parasitology*. 2018; 64(1): 13-20. (SCOPUS) *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

7. Аминов РФ, Фролов АК, Федотов ЕР. Влияние внутриутробной нагрузки биологически активными веществами солевого экстракта *Hirudo verbana* на морфометрические и гематологические показатели крыс на ранних этапах постэмбрионального развития. *Имунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2016; 4: 6-11. *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, взята участь у морфологічних дослідженнях, здійснено аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

#### *Статті в інших наукових виданнях:*

1. Фролов ОК, Амінов РФ, Даниленко ІЮ. Гематологічно-морфометричні зміни показників у щурів на фоні впливу сольового екстракту *Hirudo verbana*. *Актуальні питання біології, екології та хімії*. 2018; 15(1): 118-126. *(Здобувачем особисто виконано експериментальні дослідження, аналіз та статистичну обробку результатів, написання статті).*

#### *Тези наукових доповідей:*

1. Аминов РФ. Морфометрические параметры тела и иммунологических органов на фоне гирудовлияния. *Материалы IV Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Наука и медицина: современный взгляд молодежи», 20-21 апреля 2017 г., г. Алматы, Республика Казахстан*. 2017; 664.

2. Амінов РФ. Метаболічна активність нейтрофілів щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні гірудовпливу. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації - 2017», 11-12 трав. 2017 р., м.Запоріжжя*. 2017; 191.

3. Амінов РФ, Фролов ОК. Фагоцитарна активність нейтрофілів крові щура на фоні гірудотерапії. Матеріали IV Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології», 5-6 жовтня 2017 р., м. Дніпро. 2017; 270.

4. Амінов РФ, Фролов ОК. Морфометричні, гематологічні та імунологічні показники крові щурів на фоні гірудовпливу. Матеріали XV Всеукраїнської наукової конференції з очно-заочною участю «Актуальні питання біології та медицини», 25 – 26 травня 2017 р., м. Старобільськ. 2017; 192.

5. Амінов РФ, Фролов ОК. Гірудологічний вплив на мітотичну активність клітин кісткового мозку щурів. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції з дистанційною участю «Актуальні питання біології та медицини», 16-17 листопада 2017 р., м. Суми. 2017; 13.

6. Амінов РФ, Фролов ОК. Вплив слини медичної п'явки на розміри селезінки в різні періоди раннього постембріонального розвитку щура. Науково-практична конференція «Прикладні аспекти морфології», присвяченій пам'яті професорів-морфологів Терентьева Г. В., Роменського О. Ю., Когана Б. Й., Шапаренка П. П., Жученка С. П., 21-22 верес. 2017 р., м. Вінниця. 2017; 31-32.

7. Амінов РФ, Фролов ОК, Федотов ЄР. Гематологічний аналіз крові щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу *Hirudo verbana* в преембріональний і ембріональний періоди розвитку. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції Присвяченої 30-річчю біологічного факультету Запорізького національного університету «Сучасні проблеми біології, екології та хімії», 26-28 квітня 2017 р., м. Запоріжжя. 2017; 336.

8. Амінов РФ, Даниленко ІЮ. Вплив антигенів медичної п'явки на морфометричні показники тіла приплоду щурів у динаміці онтогенезу. Матеріали IV Регіональної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» з всеукраїнською участю», 27 листопада 2015 р., м. Запоріжжя. 2015; 264.

9. Амінов РФ, Даниленко ІЮ. Гематологічні показники щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку при імуностимуляції біологічно активними речовинами медичної п'явки в преембріональний і ембріональний період. Матеріали ІХ університетської науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Молода наука-2016», 12-14 квітня 2016 р., м. Запоріжжя. 2016; 398.

10. Амінов РФ. Фагоцитарна активність нейтрофілів крові щурів під впливом сольового екстракту *Hirudo verbana*. Матеріали V Регіональної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук», 26 листопада, 2016 р., м. Запоріжжя. 2016; 114.

11. Аминов РФ. Внутритрунная нагрузка соевым экстрактом *hirudo verbana* на иммунологические показатели крыс в ранних этапах постэмбрионального развития. Материалы LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации - 2017», 17-19 апреля 2017 г., г. Республика Беларусь. 2017; 733.

12. Фролов АК, Аминов РФ, Фролова ЛА, Литвиненко РА, Федотов ЕР. К вопросу о морфогенетической функции иммунной системы. Науково–практична конференція з міжнародною участю «Нові досягнення в імунології та алергології», 15–16 вересня 2017 р., м. Київ. 2017; 53-54.

13. Аминов РФ, Фролов АК, Федотов ЕР. Морфометрические, гематологические и мунологические показатели крыс в ранних этапах постэмбрионального развития на фоне внутриутробного влияния биологически активными веществами слюны и солевого экстракта *Hirudo verbana*. Материалы Второго Симпозиума Международной Ассоциации Гирудотерапевтов и Гирудологов, 1 – 3 сентября 2017 г., г. Святи Влас, Болгария. 2017; 94-101.

14. Aminov RF, Frolov OK. Functional state of t-lymphocyte rats *in vitro* under the influence of biologically active substances of salives of *Hirudo verbana* *in vivo*. Материалы III Международной научной конференции «Микробиология и иммунология – перспективы развития в XXI веке», 19-20 апреля, 2018 г., г. Киев. 2018; 123.

#### Патенти:

1. Амінов РФ, Фролов ОК, Федотов ЄР, винахідники; Запорізький національний університет, патентовласник. Пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин. Патент Україна на корисну модель. № u 201512710. 2016 травень 25. *(Здобувачем особисто проведено патентні дослідження, написання патенту, взята участь у формулюванні формули винаходу).*

2. Амінов РФ, Фролов ОК, Федотов ЄР, винахідники; Запорізький національний університет, патентовласник. Спосіб визначення фагоцитарної активності нейтрофілів. Патент Україна на винахід. № а 201604503. 2018 квітень 10. *(Здобувачем особисто проведено патентні дослідження, написання патенту, взята участь у формулюванні формули винаходу).*

#### АНОТАЦІЯ

**Амінов Р. Ф. Вплив гірудопунктури та екстракту з тканин медичної п'явки на імунну реактивність самиць та приплоду щурів у постембріональному онтогенезі. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.09 – імунологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2018.

Дисертація присвячена дослідженню функціонального стану імунної системи статевозрілих нелінійних самиць щурів, які піддавалися гірудологічному впливу та веденню водно-солевого екстракту *Hirudo verbana* в передкоітальний та після коітальний періоди, та функціональний стан імунної системи їх приплоду в постембріональному онтогенезі.

В ході роботи, вперше встановлено в експерименті на лабораторних щурах, що слина та водно-солевий екстракт тканин *Hirudo verbana* стимулюють імунну систему самиць та їх приплоду в ранньому постембріональному онтогенезі,

викликає позитивні структурні зміни у первинних та вторинних лімфоїдних органах, посилення як вродженої, так і адаптивної імунної реактивності у цих тварин, а також у їх приплоду.

Посилення імунної реактивності у приплоду супроводжується збільшенням приросту його маси, що підтверджує взаємозв'язок імунної системи з процесами морфогенезу і здатність медичної п'явки позитивно впливати на ці процеси.

Отримані нами дані дають підстави вважати застосування гірудовпливу перспективним методологічним підходом для використання у тваринництві з метою підвищення ефективності репродуктивних процесів при розведенні свійських тварин.

**Ключові слова:** біологічно активні речовини, медична п'явка, імуномодулятори природного походження, вроджений імунітет, адаптивний імунітет.

## АННОТАЦІЯ

**Аминов Р.Ф. Влияние гирудопунктуры и экстракта из тканей медицинской пиявки на иммунную реактивность самок и потомства крыс в постэмбриональном онтогенезе. - Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.09 - иммунология. - Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2018.

Диссертация посвящена исследованию функционального состояния иммунной системы половозрелых нелинейных самок крыс, которые подвергались гирудологическому влиянию и введению водно-солевого экстракта *Hirudo verbana* в прекоитальный и после коитальный периоды, и функциональное состояние иммунной системы их приплода в постэмбриональном онтогенезе.

В ходе работы, впервые установлено в эксперименте на лабораторных крысах, что слюна и водно-солевой экстракт тканей *Hirudo verbana* стимулируют иммунную систему самок и их потомства в раннем постэмбриональном онтогенезе, вызывает положительные структурные изменения в первичных и вторичных лимфоидных органах, усиление как врожденной, так и адаптивной иммунной реактивности у этих животных, а также у их приплода.

Усиление иммунной реактивности у приплода сопровождается увеличением прироста его массы, что подтверждает взаимосвязь иммунной системы с процессами морфогенеза и способность медицинской пиявки положительно влиять на эти процессы.

Полученные нами данные дают основания считать применение гирудовлияния перспективным методологическим подходом для использования в животноводстве с целью повышения эффективности репродуктивных процессов при разведении домашних животных.

**Ключевые слова:** биологически активные вещества, медицинская пиявка, имуномодуляторы естественного происхождения, врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет.

## SUMMARY

**Aminov R. F. Effect of hirudopuncture and extract tissue of medical leech on immune reactivity of females and offspring of rats in post-embryonic ontogenesis. – Manuscript.**

Dissertation for a scientific degree of the candidate of biological sciences, specialty 03.00.09 - Immunology. - Kyiv National Taras Shevchenko University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2018.

The dissertation is devoted to the study of the functional state of the immune system of sexually mature nonlinear female rats exposed to the hirudological influence and management of the *Hirudo verbana* water-salt extract in the period before mating and the period after mating, and the functional state of the immune system of their offspring in the post-embryonic ontogenesis. For the first time it was discovered, in an experiment in laboratory rats, that saliva and hydro-salt extract of *Hirudo verbana* medical leeches (ML) stimulate the immune system of females and their offspring in early post-embryonic ontogenesis.

It was established that the introduction of water-salt extract and the hirudological effect stimulate the internal tissues of the internal environment: hematopoietic and lymphoid. Putting water-salt extract and hirudological influence in laboratory rats of females and their offspring in post-embryonic ontogenesis contributed to increased phagocytic activity of blood neutrophils compared to control groups of animals. For the first time, it has been demonstrated that saliva and water-salt extract increase the oxidative metabolism of neutrophils in female rats and their offspring compared with the control group of animals. Such changes in the parameters of functional activity of blood neutrophils in rats are associated with the activation of congenital immunity under the influence of ML.

It was established that ML stimulates non-productive immunogenesis, which is manifested by the appearance of lymphocytes with morphological features of apoptosis and necrosis. It was found that induction of unproductive immunogenesis of ML of the species *Hirudo verbana* leads to apoptosis and necrosis of lymphocytes in cell culture, under conditions of influence of ML of saliva and water-salt extract, it is probably the leading mechanism of anti-inflammatory action of ML. An increase in the level of proliferative activity of lymphocytes under the influence of ML is higher than spontaneous, can be explained by the presence of common patterns in the protein structure of all species. Excess of proliferative activity on ML compared to spontaneous cultures, even in control females, can be explained by their polyclonality. Such changes in the indicators proliferative activity of blood lymphocytes in rats are associated with the activation of adaptive immunity under the influence of ML. For the first time, it has been demonstrated that ML causes an increase in the proliferative activity of bone marrow cells. It was first discovered that ML stimulates the lymphoid organs of the immune system (thymus and spleen), which is manifested in the increased body weight, the number of lymphocytes per unit area, the increase in the area of the lymphoid follicle of the spleen, the prevalence of the white spleen of the spleen in comparison with the control groups of animals.

The experimental results obtained indicate that ML *Hirudo verbana* and in general stimulate the immune system of females and their offspring in post-embryonic ontogenesis, which can be used in veterinary medicine, when breeding domestic animals.

**Keywords:** biologically active substances, medical leeches, immune modulators of natural origin, congenital immunity, adaptive immunity.

Підписано до друку 12.11.2018. Формат 60×90/16.  
Папір офсетний. Друк ризографічний. Гарнітура Times.  
Умовн. друк. арк. 0,9. Тираж 100 прим. Зам. № 251.

---

Запорізький національний університет

69600, м. Запоріжжя, МСП-41  
вул. Жуковського, 66

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи  
до Державного реєстру видавців, виготівників  
і розповсюджувачів видавничої продукції  
ДК № 5229 від 11.10.2016.

