
••• ФІЗИОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН •••
••• PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS •••

УДК: 612.419 (615.811.2)

**Гемопоетична активність кісткового мозку щура на фоні впливу
сольового екстракту *Hirudo verbana* Carena, 1820**

Р.Ф.Амінов

*Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
91_amin_91@ukr.net*

Досліджено мітотичну активність кісткового мозку нелінійних самок щурів після вигодовування їх приплоду та оцінено цей показник у їх приплоду на ранніх етапах постембріонального розвитку – на 1, 15, 30, 45, 60-ту добу. Самкам два тижні до злучки з самцями і два тижні після внутрішньочеревно вводився (з розрахунку 5 мг/кг маси тварини) сольовий екстракт *Hirudo verbana*, один раз, кожного тижня. У дослідній групі самок мітотичний індекс достовірно збільшився (на 33,61%); у їх приплоді максимальне підвищення мітотичного індексу спостерігали на першу добу (на 50,88%); підвищення проліферативної активності клітин кісткового мозку спостерігали і в інші терміни спостереження: на 30-ту добу (на 25,67%) та на 60-ту добу (на 18,35%). У дослідній групі тварин підвищувались також всі гемопоетичні показники периферичної крові (кількість лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобін). Збільшення кількості лейкоцитів у дослідній групі самок відбувалося без істотних змін їх відносних популяційних співвідношень у лейкоцитарній формулі крові. У дослідній групі приплоду виявлено вплив екстракту медичної п'явки на зміни диференціювання популяції лейкоцитів. Так, у приплоду на першу добу зсув лейкоцитарної формули крові вліво зменшувався за рахунок зниження клітин вродженого імунітету (гранулоцити та моноцити) та збільшення клітин адаптивного імунітету (лімфоцити), це свідчить про прискорене диференціювання лімфоїдної системи у напрямку дорослих тварин. Деякі відмінності диференціювання лейкоцитів відмічали на початку статевого дозрівання (30-ту добу) та в його кінці (60-ту добу). На цих термінах відбувався нейтрофілозний зсув вліво, як наслідок напруги вродженої ланки імунітету при наявності адекватної кількості клітин адаптивного імунітету. Таким чином, у результаті дослідження було виявлено стимулюючу дію екстракту медичної п'явки на мітотичну активність кісткового мозку, як у статевозрілих самок, так і у їх приплоду, яка призвела до збільшення кількості лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, кольорового показника. У приплоді у період підвищеної напруги морфогенезу має місце активація як вродженої, так і адаптивної ланок імунітету у дослідній групі тварин.

Ключові слова: екстракт медичної п'явки, кістковий мозок, мітотична активність, лейкоцити, лейкоцитарна формула, еритроцити.

**Hematopoietic activity of rat bone marrow at the influence of salt extract of
Hirudo verbana Carena, 1820**

R.F.Aminov

The mitotic activity of the bone marrow of non-linear female rats after feeding their offspring was studied and this index was estimated in their offspring in the early stages of postembryonic development – on the 1, 15, 30, 45, 60th day. Females two weeks prior to mating with males and two weeks after were intraperitoneally injected with *Hirudo verbana* saline extract (5 mg/kg of the weight of an animal), once, every week. In the experimental group of females, the mitotic index significantly increased (by 33.61%); in their offspring, the maximum increase in the mitotic index was observed on the first day (by 50.88%); the increase in the proliferative activity of bone marrow cells was observed at other observation times: on the 30th day (by 25.67%) and on the 60th day (by 18.35%). In the experimental group of animals, all hematopoietic parameters of peripheral blood (the number of leukocytes, erythrocytes, hemoglobin) also increased. An increase in the number of leukocytes in the experimental group of females occurred without significant changes in their relative population ratios in the leukocyte blood formula. In the experimental group of the offspring, the effect of the leech extract on the changes in the differentiation of leukocyte populations was revealed. Thus, in the offspring for the first day the shift of the leukocyte blood formula to the left decreased due to the decrease in cells of innate immunity (granulocytes and monocytes) and increase in adaptive immunity cells (lymphocytes),

which indicates an accelerated differentiation of the lymphoid system towards adult animals. Some differences in the differentiation of leukocytes were noted at the onset of sexual maturation (on the 30th day) and at its end (on the 60th day). At these times, a neutrophilic shift occurred to the left, as a consequence of the intension of the congenital link of immunity in the presence of an adequate number of cells of adaptive immunity. Thus, as a result of the study, the stimulating effect of the extract of the medical leech on the mitotic activity of the bone marrow was revealed, both in mature females and in their offspring, which resulted in an increase in the number of leukocytes, erythrocytes, hemoglobin, and color index. In the offspring, during the period of increased stress of morphogenesis, there is an activation of both the congenital and adaptive links of immunity in the experimental group of animals.

Key words: *medical leech extract, bone marrow, mitotic activity, leukocytes, leukocyte formula, erythrocytes.*

Гемопоэтическая активность костного мозга крысы на фоне влияния солевого экстракта *Hirudo verbana* Carena, 1820 Р.Ф.Аминов

Исследована митотическая активность костного мозга нелинейных самок крыс после выкармливания их приплода и оценен этот показатель у их приплода на ранних этапах постэмбрионального развития – на 1, 15, 30, 45, 60-ые сутки. Самкам две недели до случки с самцами и две недели после внутрибрюшинно вводился (из расчета 5 мг/кг массы животного) солевой экстракт *Hirudo verbana*, один раз, каждую неделю. В опытной группе самок митотический индекс достоверно увеличился (на 33,61%); в их приплоде максимальное повышение митотического индекса наблюдали на первые сутки (на 50,88%); повышение пролиферативной активности клеток костного мозга наблюдали и в другие сроки наблюдения: на 30-ые сутки (на 25,67%) и на 60-ые сутки (на 18,35%). У опытной группы животных повышались также все гемопоэтические показатели периферической крови (количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобин). Увеличение количества лейкоцитов у опытной группы самок происходило без существенных изменений их относительных популяционных соотношений в лейкоцитарной формуле крови. В опытной группе приплода выявлено влияние экстракта медицинской пиявки на изменения дифференцирования популяций лейкоцитов. Так, у приплода на первые сутки сдвиг лейкоцитарной формулы крови влево уменьшался за счет снижения клеток врожденного иммунитета (гранулоциты и моноциты) и увеличения клеток адаптивного иммунитета (лимфоциты), это свидетельствует об ускоренном дифференцировании лимфоидной системы в направлении взрослых животных. Некоторые отличия дифференцирования лейкоцитов отмечали в начале полового созревания (30-ые сутки) и в его конце (60-ые сутки). На этих сроках происходил нейтрофилезный сдвиг влево, как следствие напряжения врожденного звена иммунитета при наличии адекватного количества клеток адаптивного иммунитета. Таким образом, в результате исследования было выявлено стимулирующее действие экстракта медицинской пиявки на митотическую активность костного мозга, как у половозрелых самок, так и у их приплода, которое привело к увеличению количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, цветного показателя. В приплоде в период повышенного напряжения морфогенеза имеет место активация как врожденного, так и адаптивного звеньев иммунитета у опытной группы животных.

Ключевые слова: *экстракт медицинской пиявки, костный мозг, митотическая активность, лейкоциты, лейкоцитарная формула, эритроциты.*

Вступ

Незважаючи на високу ефективність багатьох синтетичних лікарських засобів, все більше від них підвищується частота ускладнень, у вигляді хронізації захворювань та появи різних побічних ефектів. Окрім того, синтетичні лікарські засоби є ксенобіотиками для людини та тварин, що ініціює імунні реакції до них, які призводять до підвищення алергій та аутоалергій (Матвеева та ін., 2011; Солошенко, 2012). Тому медично-біологічна спільнота все активніше досліджує натуротерапевтичні методи впливу на організм тварини та людини. Одним з яких є грудотерапія – лікування п'явками. Секрет слинних залоз медичної п'явки в своєму складі має більше 100 біологічно активних речовин, які проявляють різну терапевтичну дію: антитромботичну, протизапальну, судинорозширювальну, бактерицидну, антисклеротичну, імуностимулюючу та іншу (Жаров, 2003; Савинов, 2004; Баскова, Завалова, 2001; Каменев, Барановский, 2006). Протягом багатьох десятиліть вчені та науковці намагаються довести ефективність грудотерапії для лікування та профілактики різних захворювань, вивести її на рівень офіційної медицини (Pospelova, Barnaulov, 2010; Фролов и др., 2010; Abbas et al., 2011; Hildebrandt, Lemke, 2011; Multiple, 2011; Abdullah et al., 2012; Kumar, 2012;

Коеппен et al., 2014; Frolov, Litvinenko, 2015). Проведені дослідження морфологічних змін у кіз після курсів гірудопунктури; у період їх роздоювання у них підвищувалася маса тіла, збільшувалася молочність без ускладнення маститом, а в репродуктивний період – відзначається 100% запліднення із народженням двійнят зі збільшеною вагою (Фролов и др., 2010а). При дослідженні, які були проведені на коровах, гірудопунктура сприяла пришвидшеній післяпологовій реабілітації, зворотній інволюції репродуктивних органів до фізіологічного стану (Попова, 2003). Нами було доведено в попередніх дослідженнях, що антигени та слина медичної п'явки в процесі гірудотерапії стимулює морфогенетичні процеси, які опосередковані в основному через фактори імунної системи (підвищення фізичних параметрів тіла, стимуляція мієлоїдної та лімфоїдної тканин селезінки і тимусу і, як наслідок, збільшення розмірів органів), підвищення функціональної активності нейтрофілів крові (Амінов, Фролов, 2016; Aminov, Frolov, 2017, 2018). Оскільки більшість тяжких побічних реакцій від синтетичних ліків викликають гематологічні розлади внаслідок пригнічення функції клітин кісткового мозку, стало актуально дослідити проліферативну активність кісткового мозку та гематологічні показники крові на фоні впливу екстракту *Hirudo verbana*.

Матеріал та методи дослідження

Самкам нелінійних щурів один раз на тиждень, 2 тижні до злучки із самцями і 2 тижні після, вводилися внутрішньочеревно антигени сольового екстракту медичної п'явки *Hirudo verbana* Capena, 1820, отримані методом, запропонованим Фролов та ін. (2013). Дозування антигенів сольового екстракту здійснювали за вмістом білка (визначали за Лоурі). Фіксували тварин за допомогою фіксуючого пристрою (Амінов та ін., 2016). Тварин розподіляли на дві групи: перша – дослідна група тварин перебувала під впливом антигенів сольового екстракту медичної п'явки у дозі з розрахунку 5 мг/кг маси тварини, кількістю 0,5 мл; друга – контрольна група тварин, яким внутрішньочеревно вводився фізіологічний розчин у розмірі 0,5 мл. Досліджували самок після вигодовування приплоду та приплід у динаміці на 1-шу, 15-ту, 30-ту, 45-ту, 60-ту добу (Западнюк и др., 1983). Експериментальні дослідження виконані з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Тварин утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні в індивідуальних клітках. Усього в експерименті використано 40 самок нелінійних щурів та 200 особин їх приплоду.

Всіх тварин декапітували під ефірним наркозом, після чого швидко вилучали стегнові кістки, очищали їх від прилеглих м'язів за допомогою стерильної марлі. Відрізали епіфізи та розрізали вздовж кістки. Кістковий мозок із стегнової кістки вимивали теплим (37°C) гіпотонічним 0,9% розчином цитрату натрію у стерильну центрифужну пробірку, використовуючи для цієї мети пастерівську піпетку. Шматочки кісткового мозку інтенсивно піпетували. Отриману клітинну суспензію інкубувати в гіпотонічному середовищі 10 хв. при температурі 37°C. Центрифугували отриману суспензію протягом 5 хв. при 1000 об/хв. Обережно відсмоктували всю надосадову рідину, намагаючись при цьому не пошкодити осад. Клітини у осаді фіксували метиловим спиртом із крижаною оцтовою кислотою (3 частини метилового спирту та 1 частина оцтової кислоти). До осаду обережно доливали свіжоприготований та охолоджений фіксатор, близько 2 мл, намагаючись не розбити осад. Загальний час фіксації 12 год. За час фіксації змінювали 3 рази фіксатор, з проміжним ресуспензуванням осаду і наступним центрифугуванням. Осад ресуспензували та на чисте холодне предметне скло наносили суспензію клітин у фіксаторі. Скло швидко проводили через полум'я пальника, щоб фіксатор запалав, але не допускаючи перегрівання. Фіксатор при цьому вигорав, а клітини міцно фіксувалися до скла. Висушені препарати фарбували 15% барвником Романовського-Гімза 40 хв. Після чого промивали у дистильованій воді та диференціювали у підкисленій краплинами HCl дистильованій воді. При аналізі 3000 клітин визначали ті, що знаходяться у мітозі (рис. 1). Мітотичний індекс виражали в проміле – кількості мітозів на 1000 клітин (Богданов, 2016). У крові тварин досліджували кількість лейкоцитів, лейкоцитарну формулу крові, кількість еритроцитів, гемоглобін та кольоровий показник (Беркало та ін., 2003).

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою програмного пакету SPSS v.21.0. (IBMSPSS Statistics, USA). Вибіркові параметри, наведені далі в таблиці, мають такі позначення: \bar{x} – вибіркове середнє, SE – стандартна помилка середнього. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Стьюдента. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Аналіз даних табл. 1 і 2 виявив збільшення всіх аналізованих показників дослідної групи тварин у порівнянні з контрольною. Так, у дослідної групи самок мітотичний індекс достовірно збільшився (на 33,61%) порівняно з контрольною групою тварин, $p < 0,05$. В їх приплоді максимальне підвищення мітотичного індексу спостерігали у дослідної групи на першу добу (на 50,88%) порівняно з контрольною групою тварин, $p < 0,05$. Достовірне підвищення проліферативної активності клітин кісткового мозку спостерігали і в інші терміни спостереження: на 30-ту добу (на 25,67%, $p < 0,05$) та на 60-ту добу (на 18,35%, $p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. Тенденція до збільшення мітотичного індексу спостерігалася і на 15-ту (16,83%) та 45-ту добу (на 33,3%) (табл. 1). Як наслідок збільшення мітотичного індексу кісткового мозку у дослідної групи тварин підвищувались також всі гемопоетичні показники периферичної крові (табл. 2). Так, кількість лейкоцитів в артеріовенозній крові у дослідних самок збільшилася на 41%, кількість еритроцитів – на 6%, гемоглобін – на 23,6% порівняно з контрольною групою тварин (табл. 2). При аналізі лейкоцитарної формули крові встановлено, що відносне співвідношення популяцій лейкоцитів у дослідної групи тварин залишається без суттєвих змін їх популяційних співвідношень, що свідчить про гомеостатичне диференціювання лейкоцитів мієлопоезу та лімфопоезу під впливом БАР МП (біологічно активних речовин медичної п'явки) (табл. 3). Разом з тим абсолютні значення кількості різних типів лейкоцитів у дослідної групи самок значно збільшувались, як наслідок зростання їх загальної кількості під впливом стимуляції мітотичного індексу кісткового мозку. Збільшення кількості лейкоцитів у дослідної групи приплоду зберегло основні тенденції їх розподілу у лейкоцитарній формулі крові, як у статевозрілих самиць.

Таблиця 1.

Мітотична активність кісткового мозку дослідної та контрольної групи щурів ($\bar{x} \pm SE$, $n=20$)

Група тварин	Мітотичний індекс, ‰	
	контроль	дослід
статевозрілі самки	16,87 ± 1,77	23,15 ± 1,84*
приплід – 1 доба	16,77 ± 0,97	34,22 ± 3,65*
приплід – 15 доба	18,23 ± 0,20	21,92 ± 2,14*
приплід – 30 доба	11,05 ± 1,30	14,76 ± 0,48*
приплід – 45 доба	10,40 ± 0,23	16,16 ± 0,72*
приплід – 60 доба	12,92 ± 0,66	15,83 ± 1,37*

Примітка: * $p < 0,05$.

Однак слід зазначити наявність впливу БАР МП на зміни диференціювання популяцій лейкоцитів. Так, у приплоді на першу добу зсув лейкоцитарної формули крові вліво зменшувався за рахунок зниження клітин вродженого імунітету (гранулоцити та моноцити) та збільшення клітин адаптивного імунітету (лімфоцитів), це свідчить про прискорене диференціювання лімфоїдної системи у напрямку дорослих тварин за рахунок дії БАР МП. Деякі відмінності диференціювання лейкоцитів відмічали на початку статевого дозрівання (30-ту добу) та в його кінці (60-ту добу). На цих термінах відбувався нейтрофілїозний зсув вліво, як наслідок напруги вродженої ланки імунітету при наявності адекватної кількості клітин адаптивного імунітету. Таким чином, в період підвищеної напруги морфогенезу має активація як вродженої, так і адаптивної ланок імунітету у дослідної групи тварин. Причому найбільший ступінь цих змін реєструвався на 1-ту, 15-ту та 60-ту добу життя (табл. 2). Цей факт свідчить про гомеостатичний вплив біологічно активних речовин слини медичної п'явки на стимуляцію гематологічних гістогенезів, без інгібіції або стимуляції одного із них. Тому можна передбачити, що в подальшому розвитку онтогенезу у дослідної групи приплоду не будуть спостерігатись відхилення від фізіологічних меж. Представлені дані свідчать, що введення дозованого сольового екстракту біологічно активних речовин *Hirudo verbana* самкам два тижні до спарування і два тижні після призводить до підвищення проліферуючої активності кісткового мозку у них та у їх приплоду.

Адекватно підвищенню мітотичного індексу клітин кісткового мозку, збільшуються еритроцитарні показники (кількість еритроцитів та гемоглобін) і лейкоцитарні показники (кількість лейкоцитів) крові. Отримані результати мають фундаментальну та прикладну перспективу по вивченню можливостей механізмів позитивної регуляції онтогенезу за впливу дозованого сольового екстракту біологічно активних речовин *Hirudo verbana* Carena, 1820.

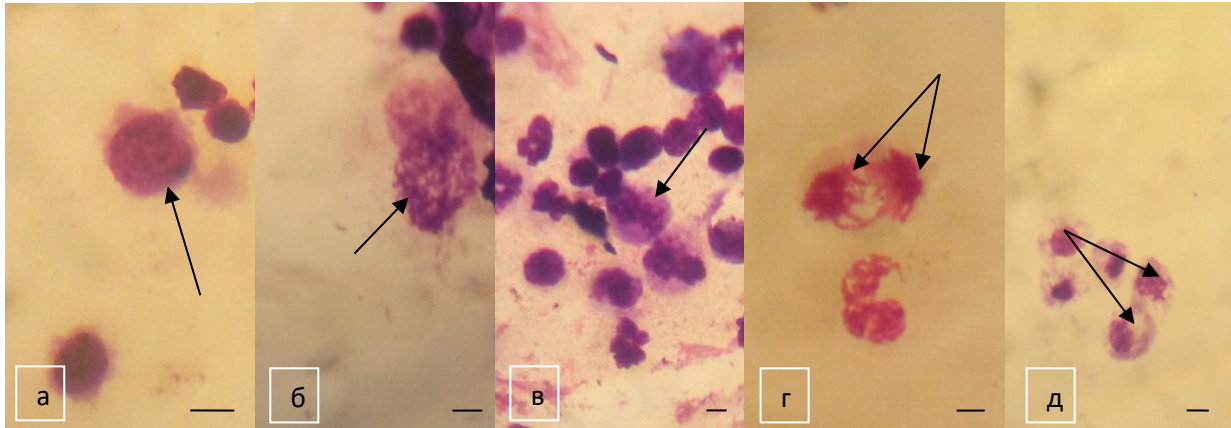


Рис 1. Стадії мітозу: а – інтерфаза, б – профаза, в – метафаза, г – анафаза, д – телофаза (чорними стрілками помічені клітини у різних стадіях мітозу); довжина бара – 10 мкм; забарвлення за методом Романовського-Гімза

Таблиця 2.

Загальна кількість лейкоцитів та еритроцитів, гемоглобін, кольоровий показник дослідної та контрольної групи щурів ($x \pm SE$, $n=20$)

Група тварин		Показники			
		лейкоцити/л ($\times 10^9$)	еритроцити/л ($\times 10^{12}$)	гемоглобін, г/л	кольоровий показник
статевозрілі самки	контроль	6,83 \pm 0,13	5,97 \pm 0,14	145,95 \pm 2,16	0,74 \pm 0,13
	дослід	11,90 \pm 0,37*	6,13 \pm 0,25	199,99 \pm 8,37*	0,91 \pm 0,10
приплід – 1 доба	контроль	8,02 \pm 0,54	1,75 \pm 0,19	76,45 \pm 3,46	1,98 \pm 0,19
	дослід	8,86 \pm 0,36	2,09 \pm 0,06*	107,14 \pm 2,56*	1,72 \pm 0,28
приплід – 15 доба	контроль	4,40 \pm 0,26	1,27 \pm 0,03	80,20 \pm 0,79	2,04 \pm 0,86
	дослід	6,06 \pm 0,35 *	1,94 \pm 0,22*	106,7 \pm 1,62*	0,97 \pm 0,29
приплід – 30 доба	контроль	5,02 \pm 0,18	2,70 \pm 0,11	103,46 \pm 2,06	1,21 \pm 0,14
	дослід	4,64 \pm 0,17	3,80 \pm 0,27*	109,04 \pm 5,51	0,98 \pm 0,17
приплід – 45 доба	контроль	6,07 \pm 0,15	2,62 \pm 0,14	139,92 \pm 5,86	1,54 \pm 0,90
	дослід	6,54 \pm 0,16*	4,02 \pm 0,29*	137,08 \pm 2,54	1,11 \pm 0,36
приплід – 60 доба	контроль	5,50 \pm 0,16	4,26 \pm 0,16	135,00 \pm 3,47	0,95 \pm 0,09
	дослід	7,20 \pm 0,53*	5,20 \pm 0,07*	148,43 \pm 2,70*	0,86 \pm 0,07

Примітка: * $p < 0,05$.

Таблиця 3.

Лейкоцитарна формула крові дослідної та контрольної групи щурів ($\bar{x} \pm SE$, $n=20$)

Група тварин	Лейкоцити/л ($\times 10^9$)	Лейкоцитарна формула						лімфоцити, % / кл. $\times 10^9$	моноцити, % / кл. $\times 10^9$
		еозинофіли, % / кл. $\times 10^9$	нейтрофіли			загальний відсоток			
			паличкоядерні, % / кл. $\times 10^9$	сегментоядерні, % / кл. $\times 10^9$	загальний відсоток				
статевозрілі самки	контроль	$0,45 \pm 0,07$ $0,03 \pm 0,001$	$7,70 \pm 1,25$ $0,52 \pm 0,03$	$18,70 \pm 1,99$ $1,28 \pm 0,06$	$26,40 \pm 2,40$ $1,80 \pm 0,09$	$70,80 \pm 0,99$ $4,90 \pm 0,24$	$2,35 \pm 0,52$ $0,09 \pm 0,005$		
	дослід	$0,40 \pm 0,06$ $0,05 \pm 0,002$	$6,00 \pm 0,80$ $0,71 \pm 0,03^*$	$17,70 \pm 1,22$ $2,11 \pm 0,10^*$	$23,70 \pm 2,25$ $2,82 \pm 0,14^*$	$72,10 \pm 1,01$ $8,58 \pm 0,43^*$	$3,80 \pm 0,66^*$ $0,45 \pm 0,02^*$		
приплід - 1 доба	контроль	$0,52 \pm 0,07$ $0,04 \pm 0,002$	$33,67 \pm 1,39$ $2,7 \pm 0,13$	$15,33 \pm 2,14$ $1,23 \pm 0,06$	$49,00 \pm 2,98$ $3,93 \pm 0,20$	$45,15 \pm 1,93$ $3,62 \pm 0,18$	$5,33 \pm 0,63$ $0,43 \pm 0,02$		
	дослід	$0,64 \pm 0,08$ $0,03 \pm 0,002$	$21,67 \pm 3,02^*$ $1,92 \pm 0,09^*$	$16,05 \pm 0,36$ $1,42 \pm 0,07^*$	$37,72 \pm 2,01^*$ $3,32 \pm 0,17^*$	$59,38 \pm 2,09^*$ $5,26 \pm 0,26^*$	$2,26 \pm 0,44^*$ $0,20 \pm 0,01^*$		
приплід - 15 доба	контроль	$0,21 \pm 0,04$ $0,009 \pm 0,0004$	$3,80 \pm 0,67$ $0,17 \pm 0,008$	$9,40 \pm 1,14$ $0,41 \pm 0,02$	$13,20 \pm 3,38$ $0,58 \pm 0,03$	$83,21 \pm 0,94$ $3,66 \pm 0,18$	$3,40 \pm 0,49$ $0,15 \pm 0,007$		
	дослід	$0,12 \pm 0,02$ $0,007 \pm 0,0004$	$6,25 \pm 1,21$ $0,38 \pm 0,02^*$	$13,75 \pm 1,49^*$ $0,83 \pm 0,04^*$	$20,00 \pm 3,19^*$ $1,21 \pm 0,06^*$	$77,38 \pm 0,78^*$ $4,69 \pm 0,23^*$	$2,5 \pm 0,34$ $0,15 \pm 0,007$		
приплід - 30 доба	контроль	$0,41 \pm 0,05$ $0,02 \pm 0,001$	$3,00 \pm 0,34$ $0,15 \pm 0,007$	$2,65 \pm 0,11$ $0,13 \pm 0,007$	$5,65 \pm 2,42$ $0,28 \pm 0,01$	$88,95 \pm 0,50$ $4,46 \pm 0,22$	$4,99 \pm 0,22$ $0,25 \pm 0,01$		
	дослід	$0,50 \pm 0,07$ $0,023 \pm 0,001$	$7,72 \pm 1,85^*$ $0,36 \pm 0,002^*$	$6,75 \pm 0,61$ $0,31 \pm 0,01^*$	$14,47 \pm 3,57^*$ $0,67 \pm 0,03^*$	$79,78 \pm 1,47$ $3,70 \pm 0,18^*$	$5,25 \pm 0,50$ $0,24 \pm 0,01$		
приплід - 45 доба	контроль	$0,2 \pm 0,09$ $0,012 \pm 0,0006$	$2,05 \pm 0,45$ $0,12 \pm 0,006$	$6,05 \pm 0,71$ $0,37 \pm 0,02$	$8,10 \pm 1,22$ $0,49 \pm 0,02$	$89,35 \pm 1,07$ $5,42 \pm 0,27$	$2,35 \pm 0,56$ $0,14 \pm 0,007$		
	дослід	$0,3 \pm 0,1$ $0,02 \pm 0,001$	$3,15 \pm 0,66$ $0,21 \pm 0,01^*$	$7,75 \pm 1,21$ $0,51 \pm 0,02^*$	$10,90 \pm 3,25^*$ $0,72 \pm 0,04^*$	$84,45 \pm 1,74^*$ $5,52 \pm 0,28$	$3,75 \pm 0,41^*$ $0,24 \pm 0,01^*$		
приплід - 60 доба	контроль	$0,81 \pm 0,11$ $0,04 \pm 0,002$	$4,82 \pm 0,95$ $0,22 \pm 0,01$	$5,76 \pm 0,60$ $0,26 \pm 0,01$	$10,58 \pm 3,04$ $0,48 \pm 0,02$	$86,76 \pm 1,62$ $3,90 \pm 0,19$	$2,65 \pm 0,12$ $0,12 \pm 0,006$		
	дослід	$0,88 \pm 0,17$ $0,06 \pm 0,003$	$12,88 \pm 1,86^*$ $0,93 \pm 0,05^*$	$8,17 \pm 1,51$ $0,59 \pm 0,03^*$	$21,05 \pm 3,11^*$ $1,52 \pm 0,08^*$	$74,01 \pm 1,80$ $5,33 \pm 0,27^*$	$4,06 \pm 0,59$ $0,29 \pm 0,01^*$		

Примітка: * $p < 0,05$, % – відносне значення, кл. $\times 10^9$ – абсолютне значення.

Список літератури / References

- Амінов Р.Ф., Фролов О.К. 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. – Vol.7. – P. 96–100. /Aminov R.F., Frolov O.K. Phagocytic and metabolic activity of rat neutrophils in the early stages of post-embryonic development due to the influence of biologically active substances of *Hirudo verbana* salt extract // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2016. – Vol.7. – P.96–100./
- Амінов Р.Ф., Фролов О.К., Федотов Є.Р. Пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин. Патент №107289 України. 2016. Заявл. 22.12.2015. Опубл. 25.05.2016. Бюл. №10. /Aminov R.F., Frolov O.K., Fedotov E.R. Device for fixing small laboratory animals. Patent No. 107289, Ukraine. Declared 22.12.2015. Published 25.05.2016. Bulletin No.10./
- Баскова И.П., Завалова Л.Л. Ингибиторы протеолитических ферментов медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) (обзор) // *Биохимия*. – 2001. – Т.66, №7. – С. 869–883. /Baskova I.P., Zavalova L.L. Inhibitors of proteolytic enzymes of medical leech (*Hirudo medicinalis*) (review) // *Biochimiya*. – 2001. – Vol.66, no. 7. – P. 869–883./
- Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. – Полтава: Полімет, 2003. – 320с. /Berkalo L.V., Bobovich O.V., Bobrov N.O. et al. Methods of clinical and experimental research in medicine. – Poltava: Polimet, 2003. – 320p./
- Жаров Д.Г. Секреты гирудотерапии или как лечиться пиявками. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. – 320с. /Zharov D. G. Secrets of hirudotherapy or how to treat with leeches. – Rostov-on-Don: Phoenix, 2003. – 320p./
- Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – К.: Вища школа, 1983. – 383с. /Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakharia E.A., Zapadnyuk B.V. Laboratory animals. Breeding, keeping, use in the experiment. – K.: Vyshcha shkola, 1983. – 383p./
- Каменев О.Ю., Барановский А.Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии: руководство для врачей. – СПб.: Весь, 2006. – 304с. /Kamenev O.Yu., Baranovsky A.Yu. Treatment with leeches: theory and practice of hirudotherapy: a guide for doctors. – St. Petersburg: Ves', 2006. – 304p./
- Матвеева О.В., Вікторов О.П., Бліхар В.Є. та ін. До питання класифікації побічних реакцій лікарських засобів та підходів до їх диференціації (бібліографічний огляд) // *Укр. мед. часопис*. – 2011. – №2 (82). – С. 78–84. /Matveyev O.V., Viktorov O.P., Bichar V.Ye. et al. To the question of classification of adverse reactions of drugs and approaches to their differentiation (bibliographic review) // *Ukrainian Medical Journal*. – 2011. – No. 2 (82). – P. 78–84./
- Попова И.С. Воспроизводительная способность молочных коров разных генотипов и использование гирудопунктуры для ее коррекции. Автореф. дис. канд. вет. наук / 16.00.07. – Воронеж, 2003. – 21с. /Popova I.S. Reproductive ability of milk cows of different genotypes and the use of the hirudopuncture for its correcting. Author's abstract of the thesis for a Candidate Degree in Veterinary Sciences / 16.00.07. – Voronezh, 2003. – 21p./
- Савинов В.А. Гирудотерапия: руководство. – М.: Медицина, 2004. – 432с. /Savinov V.A. Hirudotherapy: guidance. – M.: Medicine, 2004. – 432p./
- Солошенко Э.Н. Лекарственная болезнь в проблеме побочного действия лекарственных средств: современное состояние // *Международный медицинский журнал*. – 2012. – №3. – С. 80–88. /Soloshenko E.N. Medicinal disease in the problem of the side effect of medicines: the current state // *International Medical Journal*. – 2012. – No. 3. – P. 80–88./
- Фролов А., Копейка В., Федотов Е. и др. Влияние гирудотерапии на физиологические показатели у коз // *Тваринництво України*. – 2010а. – №7. – С. 7–10. /Frolov A., Kopeika V., Fedotov E. et al. The effect of hirudotherapy on physiological indices in goats // *Stock raising of Ukraine*. – 2010a. – No. 7. – P. 7–10./
- Фролов А., Копейка В., Федотов Е. и др. К механизму иммуотропного действия гирудотерапии // *Імунологія та алергологія: наука і практика*. – 2010б. – № 3–4. – С. 32–34. /Frolov A., Kopeika V., Fedotov E. et al. To the mechanism of immunotropic action of hirudotherapy // *Immunology and Allergology: Science and Practice*. – 2010b. – No. 3–4. – P. 32–34./
- Фролов О.К., Литвиненко Р.О., Копійка В.В., Федотов Є.Р. Спосіб отримання антигенів із медичної п'явки. Патент України UA 80665. 2013. Заявл. 03.12.12. Опубл. 10.06.13. Бюл. №11. /Frolov O.K., Lytvynenko R.O., Kopyyka V.V., Fedotov E.R. Method for producing antigens from medicinal leeches. Patent UA 80665. 2013. Declared 03.12.12. Published 10.06.13. Bulletin No. 11./
- Aminov R.F., Frolov A.K. Influence of ectoparasite – *Hirudo verbana* on morphogenetic reactions of the host organism – rattus // *Current Trends in Immunology*. – 2017. – Vol.18. – P. 107–117.
- Aminov R.F., Frolov A.K. 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. – Vol.64 (1). – P. 13–20.
- Abbas Zaidi S.M., Jameel S.S., Zaman F. et al. A systematic overview of the medicinal importance of sanguivorous leeches // *Altern. Med. Rev.* – 2011. – Vol.16, no. 1. – P. 59–65.

- Abdullah S., Dar L.M., Rashid A., Tewari A. Hirudotherapy. Leech therapy: applications and indications in surgery // Arch. Clin. Exp. Surg. – 2012. – Vol.1, no. 3. – P. 172–180.
- Frolov A.K., Litvinenko R.A. Basic morphofunctional features of pharmaceutic leech (*Hirudo verbana* Carena, 1820) tissues in various forms of response after hirudotherapeutic procedures // Annals of Parasitology. – 2015. – Vol.61 (1). – P. 27–35.
- Hildebrandt J.P., Lemke S. Small bite, large impact-saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* // Naturwissenschaften. – 2011. – Vol.98, no. 12. – P. 995–1008.
- Koeppe D., Aurich M., Rampp T. Medicinal leech therapy in pain syndromes: a narrative review // Wien. Med. Wochenschr. – 2014. – Vol.164 (5–6). – P. 95–102.
- Kumar S.A. Antiinflammatory effect of leech therapy in the patients of psoriasis // Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation. – 2012. – Vol.1 (1). – P. 71–74.
- Pospelova M.L., Barnaulov O.D. Effects of hirudotherapy on intravascular thrombosis activation in different groups of patients with cerebrovascular pathologies // Aktualnosti neurol, psihijatrije granicnih podrucja. – 2010. – Vol.18 (3). – P. 27–32.
-

Представлено: О.Г.Куц / Presented by: O.G.Kushch
Рецензент: А.Ю.Утєвський / Reviewer: A.Yu.Utevsky
Подано до редакції / Received: 18.11.2017

About the author: R.F.Aminov – Zaporizhzhya National University, Zhukovskogo Str., 66, Zaporizhzhya, Ukraine, 69600, 91_amin_91@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8471-1525>

Про автора: Р.Ф.Аминов – Запорізький національний університет, вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, Україна, 69600, 91_amin_91@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8471-1525>

Об авторе: Р.Ф.Аминов – Запорожский национальный университет, ул. Жуковського, 66, Запорожье, Украина, 69600, 91_amin_91@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8471-1525>