

9. Методика збору і обробки іхтіологічних і гідробіологічних матеріалів з метою визначення лімітів промислового вилучення риб з великих водосховищ і лиманів України / [Озінковська С. П., Єрко В. М., Коханова Г. Д. та ін.] – К.: ІРГ УААН, 1998. – 47 с.
10. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) / И.Ф. Правдин – М.: Пищ. пром-сть, 1966. – 376 с.
11. Інструкція про порядок спеціального використання риби та інших водних живих ресурсів, затверджена наказом Мінагрополітики і Мінприроди України від 11 листопада 2005 року № 623/404 Офіційний вісник України. – 2005. – № 49. – 37 с.
12. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / [Арсан О.М., Давидов О.А., Дяченко Т.А. та ін.]. за ред. В.Д. Романенка. – К.: Логос, 2006. – 408 с.
13. Исследования размножения и развития рыб: методическое пособие / под ред. Б.В. Кошелева, М.В. Гулидова. – М.: Наука, 1981. – 224 с.
14. Гистология для ихтиологов: Опыт и советы / [Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А. и др.]. – М.: Изд-во ВНИРО. – 2009. – 112 с.
15. Чугунова И.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. (Методическое пособие по ихтиологии) / И.И. Чугунова – М.: Изд-во АН СССР, 1959. – 164 с.
16. Чепурнова Л.В. Закономерности функций гонад, размножения и состояния популяций рыб бассейна Днестра в условиях гидростроительства / Л.В. Чепурнова. – Кишинев: Изд-во «Штиинца». – 1991. – 161 с.

РОЗДІЛ 3. ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

УДК 595.143.6:591.531.211:576.3

ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ФОРМЕНИХ ЕЛЕМЕНТІВ КРОВІ ЛЮДИНИ В КИШКОВОМУ СЕРЕДОВИЩІ МЕДИЧНОЇ П'ЯВКИ

Литвиненко Р. О., аспірант

Запорізький національний університет

Аналізували тривалість існування клітинних популяцій крові людини в мікрооточенні системи травлення медичної п'явки (до 40 діб) за оптимального температурного режиму їх утримування (+22-25 °C). Досліджували кров 3 донорів різного віку, які отримали по 3-4 сеанси гірудотерапії, кров відбиралась із 45 п'ярок у різні періоди досліду. Аналізували: загальну кількість лейкоцитів, лейкоформулу, наявність та морфологію еритроцитів. Максимальна тривалість існування клітинних популяцій крові годувальника в травній системі медичної п'явки наступна: еозинофіли зустрічаються до 31 доби, нейтрофіли – до 15 діб, моноцити – до 18 діб, окремі лімфоцити та еритроцити – до 32 діб. Ефекторні реакції лімфоцитів крові людини в системі травлення п'яви трансформуються в апоптотичні та некротичні.

Ключові слова: медична п'явка, біологічно активні речовини, годувальник, лейкоцити.

Литвиненко Р. А. ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ФОРМЕНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В КИШЕЧНОЙ СРЕДЕ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ / Запорожский национальный университет, Украина

Анализировали длительность существования клеточных популяций крови человека в микроокружении пищеварительной системы медицинской пиявки (до 40 суток) при оптимальном температурном режиме их содержания (+22-25 °C). Исследована кровь 3 доноров разного возраста, которые получили по 3-4 сеанса гирудотерапии, кровь отбиралась из 45 пиявок в разные периоды опыта. Анализировали: содержание лейкоцитов, лейкоформулу, наличие и морфологию эритроцитов. Максимальная продолжительность существования клеточных популяций крови кормильца в пищеварительной системе медицинской пиявки следующая: эозинофилы встречаются до 31 суток, нейтрофилы – до 15 суток, моноциты – до 18 суток, отдельные лимфоциты и эритроциты – до 32 суток. Эффекторные реакции лейкоцитов крови человека в пищеварительной системе пиявки трансформируются в апоптотические и некротические.

Ключевые слова: медицинская пиявка, биологически активные вещества, кормилец, лейкоциты.

Litvinenko R. A. VIABILITY OF HUMAN BLOOD CELLS IN THE INTESTINAL MEDIUM MEDICINAL LEECH / Zaporizhzhya National University, Ukraine

We analyzed the duration of the existence of human blood cell populations in the microenvironment of the medicinal leech's digestive system (up to 40 days) at the optimum temperature range of their content (+22-25 °C). We investigated three blood donors of different ages, who received 3-4 sessions of hirudotherapy, blood was collected from 45 leeches in different periods of the experiment. We also analyzed: white blood cell count, leukoformula, the presence and morphology of the red blood cells. The maximum duration of a breadwinner's blood cell populations in the digestive system of the medicinal leech is: eosinophils are found up to 31 days, neutrophils – up to 15 days, monocytes – to 18 days, the individual lymphocytes and red blood cells – up to 32 days. Effector responses of human white blood cells are transformed into apoptotic and necrotic in the leeches' digestive system.

Key words: medicinal leech, biologically active substances, the breadwinner, leukocytes.

ВСТУП

Внаслідок філогенетичних процесів у природі виникла екологічна система «медична п'явка — теплокровний годувальник» із відносним симбіотичним (мутуалістичним) ефектом. Тому медична п'явка (*Hirudo verbana* Carena, 1820) упродовж тривалого часу

активно використовується в лікувальній та профілактичній медицині. Обмежена та епізодична можливість годування в природі пристосувала медичну п'явку до одноразового поглинання та тривалого зберігання значного об'єму крові, який у 8-10 разів перевищує її вихідну вагу. Остання фізіологічна особливість медичної п'явки пов'язана із домінуючою бактерією-симбіонтом системи травлення — *Aeromonas hydrophila* [1, 2], яка виконує декілька функцій: травну, гемостатичну, бактеріостатичну. Але кров ссавців для медичної п'явки — не лише джерело поживних речовин, а й імунологічно здатний ксенотрансплантат. Як зручну модель пропонуємо вивчення впливу біологічно активних речовин медичної п'явки на ізольованих зразках крові годувальника в системі травлення (шлунковій кишці) п'явки в пролонгованому спостереженні, коли захисні чинники медичної п'явки пригнічують імунологічну здатність крові годувальника за типом реакції «трансплантат проти хазяїна» [3]. Тому метою роботи було встановлення тривалості існування клітинних популяцій крові людини в мікрооточенні травної системи медичної п'явки (до 40 діб) за оптимального температурного режиму їх утримування (+22-25 °C).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для вивчення взаємодій в аналоговій імунологічній ситуації реакції «трансплантат проти хазяїна» у системі «медична п'явка — кров господаря-годувальника» проводили досліди, щодо аналізу структурно-функціональних змін формених елементів крові людини в кишковому середовищі медичної п'явки. Вивчали динаміку вмісту формених елементів крові людини в різні періоди після годування медичної п'явки на тілі людини. Досліджено кров 3 донорів віком 20, 45 та 70 років, які отримали по 3-4 сеанси гірудотерапії, при цьому годування медичних п'явок проводилось на різних частинах тіла: скронева зона, потилиця, куприк, ділянка літлок, печінки. Кров відбирали із 45 медичних п'явок у різні періоди досліду (по 3-5 п'явок на кожний дослід). Медичні п'явки після годування на тілі людини утримувались при оптимальному температурному режимі (+22-25 °C). Кров годувальника із системи травлення медичних п'явок отримували механічним шляхом із ротового отвору п'явок [4]. Мазки крові готовували загальноприйнятим методом, препарати фарбували за Папенгеймом [5]. Усі тварини після вказаних дій залишалися живими протягом часу спостереження (40 діб та більше). Отримані зразки крові порівнювали: кров із травної системи медичної п'явки аналізували в перші 30 хв. після відпадання від тіла людини, через 12 год., 1 добу, і в подальшому, через кожну 1-2 доби, до 40 діб. Показники порівнювали із зразками крові, отриманої з кубітальної вени донорів на початку досліду (інтактна венозна кров) та з ранки тіла після відпадання медичної п'явки. Аналізували: загальну кількість лейкоцитів; лейкоформулу; наявність та морфологію еритроцитів. Аналіз мазків включав 200 клітин (за наявності всіх форм моно- та полінуклеарних лейкоцитів), а в подальшому, при елімінуванні полінуклеарних лейкоцитів, прораховували не менше 100 мононуклеарних. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel, «STATISTICA 6.0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клітинні популяції крові годувальника з травної системи медичної п'явки вже в перші години після годування мають суттєві морфологічні відмінності від таких в інтактній венозній крові: вони реагують апоптотичними та некротичними реакціями з відповідною зміною морфології.

Динаміка змін показників вмісту лейкоцитів та лейкоформули в мікрооточенні травної системи медичної п'явки представлена в табл. 1.

Таблиця 1 — Динаміка змін лейкоформули крові людини в мікрооточенні системи травлення медичної п'явки

Кров	Лейко-цити, Г/л	Формула крові					
		Еозино-філи,%	Нейтрофіли,%		Моно-цити,%	Лімфоцити	
			Пал	Сегм		%	Г/л
I	2	3	4	5	6	7	8
I, n=6	4,7± 0,45	2,2± 0,77	9,3± 1,69	54,7± 3,51	3,2± 0,84	30,6± 3,81	1,4± 0,06
РТ, n=4	10,2± 0,06	0,3± 0,14	5,7± 0,32	53,5± 0,41	4,0± 0,45	36,5± 0,54	3,7± 0,04
П-30хв, n=6	9,4± 0,04	0,3± 0,10	2,8± 1,05	55,8± 2,38	5,3± 1,05	35,8± 2,43	3,4± 0,21
П-12г, n=6	6,7± 0,28	1,7± 0,21	0	53,4± 3,63	6,6± 0,45	38,3± 3,63	2,5± 0,16
П-1д, n=8	6,9± 0,64	2,0± 0,88	0	58,8± 3,21	3,1± 0,31	36,1± 2,23	2,4± 0,13
П-2д, n=6	6,3± 0,68	2,6± 1,65	0	46,5± 3,60	3,7± 1,41	47,2± 3,72	3,0± 0,44
П-3д, n=6	5,1± 0,13	2,5± 1,09	0	50,2± 2,62	2,4± 1,07	44,9± 3,10	2,2± 0,23
П-4д, n=8	5,6± 0,57	0,5± 0,21	0	42,5± 4,91	0,6± 0,27	56,4± 4,96	3,1± 0,28
П-6д, n=6	— 0,65	1,4± 0,65	0	33,2± 4,71	0,3± 0,19	65,1± 5,36	—
П-7д, n=8	— 1,11	2,4± 1,11	0	30,6± 5,47	0,7± 0,15	66,3± 5,22	—
П-8д, n=6	— 0,22	1,0± 0,22	0	33,0± 3,61	0,7± 0,24	65,3± 3,73	—
П-9д, n=8	— 0,58	1,8± 0,58	0	6,9± 3,48	0,8± 0,29	90,5± 3,54	—
П-10д, n=8	— 0,79	2,4± 0,79	0	5,6± 2,05	0,5± 0,27	91,5± 2,21	—
П-11д, n=6	— 0,18	0,9± 0,18	0	5,5± 2,00	0,6± 0,20	93,0± 2,07	—
П-13д, n=10	— 1,09	2,8± 1,09	0	6,3± 2,25	0,3± 0,16	90,6± 2,43	—
П-15д, n=8	— 0,28	0,6± 0,28	0	4,3± 1,92	0,7± 0,29	94,4± 2,05	—
П-17д, n=8	— 0,67	2,2± 0,67	0	0	0,5± 0,27	97,3± 0,62	—
П-18д, n=6	— 0,22	0,5± 0,22	0	0	0,5± 0,34	99,0± 0,36	—
П-19д, n=8	— 0,20	1,4± 0,20	0	0	0	98,6± 0,20	—
П-20д, n=8	— 0,66	2,0± 0,66	0	0	0	98,0± 0,66	—
П-21д, n=10	— 0,20	1,6± 0,20	0	0	0	98,4± 0,20	—

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8
П-22д, n=10	n=8	—	1,1± 0,25	0	0	0	98,9± 0,25
	n=2	20% спостережень – детрит					
П-23д, n=6	n=5	—	0,9± 0,32	0	0	0	99,1± 0,32
	n=1	17% спостережень – детрит					
П-24д, n=6	n=5	—	1,9± 0,91	0	0	0	98,1± 0,91
	n=1	17% спостережень – детрит					
П-25д, n=10	n=8	—	1,6± 0,50	0	0	0	98,4± 0,50
	n=2	20% спостережень – детрит					
П-27д, n=6	n=5	—	1,0± 0,53	0	0	0	99,0± 0,53
	n=1	17% спостережень – детрит					
П-28д, n=8	n=6	—	1,8± 0,45	0	0	0	98,2± 0,45
	n=2	25% спостережень – детрит					
П-29д, n=8	n=6	—	1,3± 0,42	0	0	0	98,7± 0,42
	n=2	25% спостережень – детрит					
П-30д, n=6	n=5	—	0,8± 0,37	0	0	0	99,2± 0,37
	n=1	17% спостережень – детрит					
П-31д, n=7	n=5	—	1,7± 1,44	0	0	0	98,3± 1,44
	n=2	30% спостережень – детрит					
П-32д, n=6	n=3	—	0	0	0	0	100,0± 0,00
	n=3	50% спостережень – детрит					
П-36-40д, n=5	100% спостережень – детрит						

Примітки: I – ін tactна венозна кров; РТ – кров із ранки тіла людини в перші хвилини після відпадання медичної п'явки; П – медична п'явка; П-30 хв., 12 год., 1-40 діб – кров із травної системи медичної п'явки в певні проміжки часу: через 30 хв., 12 годин, 1-40 діб після відпадання від тіла людини; «» – підрахунок кількості лейкоцитів пробірковим методом не дав результату, так як у зразках крові було багато детриту; г – година; хв – хвилина; д – доба.

Кров із ранки тіла людини відрізнялась від венозної крові: загальна кількість лейкоцитів була вдвічі більшою (ін tactна кров – $4,7\pm 0,45$ Г/л, кров із ранки тіла – $10,2\pm 0,06$ Г/л, $p\leq 0,05$), статистично значимо збільшувалась абсолютна кількість лімфоцитів (ін tactна кров – $1,4\pm 0,06$ Г/л, кров із ранки тіла – $3,7\pm 0,04$ Г/л, $p\leq 0,05$). Ця різниця ймовірно була зумовлена кількома причинами. По-перше, венозна і капілярна (у даному випадку, з ранки тіла людини) кров вже фізіологічно відрізняється за кількісним та якісним складом. По-друге, у процесі годування медична п'явка формує смоктальну лакуну зі зруйнованих тканин і зону навколо неї розміром 5-15 см у ширину та глибину. У смоктальній зоні під дією біологічно активних речовин медичної п'явки розширяються кровоносні та лімфатичні капіляри, сюди мігрують лейкоцити.

Тому кров із ранки модульована лімфою, тканинною рідиною, мігрованими лейкоцитами [1, 3].

Кров із травного тракту (шлункової кишki), отримана в перші 30 хв. після відпадання п'явки від тіла людини, мала суттєві відмінності від венозної (інтактної). Так, кров не згорталась і не розділялась на плазму та формені елементи при спонтанній седиментації із застосуванням гепарину. Плазма була злегка гемолізована. Гемоліз крові безперечно зумовлений гемолітичною дією *A. hydrophila*, за якою встановлена ця функція як видова ознака [1, 6]. Статистично значимо вдвічі підвищувалась кількість лейкоцитів за рахунок дегідратації шлункової крові (інтактна кров – $4,7 \pm 0,45$ Г/л, кров із травного тракту через 30 хв. – $9,4 \pm 0,04$ Г/л, $p \leq 0,05$). Медична п'явка при засмоктуванні крові «літніє», тобто виділяє назові воду з плазми крові годувальника (людини). У лейкоцитарній формулі крові спостерігалось статистично значиме зменшення майже на 70% вмісту паличкоядерних нейтрофілів (інтактна кров – $9,3 \pm 1,69\%$, кров із травного тракту через 30 хв. – $2,8 \pm 1,05\%$, $p \leq 0,05$), за рахунок їх імунологічного руйнування, відповідно підвищувалась майже в 2,5 рази абсолютна кількість лімфоцитів (інтактна кров – $1,4 \pm 0,06$ Г/л, кров із травного тракту через 30 хв. – $3,4 \pm 0,21$ Г/л, $p \leq 0,05$).

Кров із травного тракту медичної п'явки через 12 годин після годування на тілі людини відрізнялась від вищевказаних зразків, так у ній вже не відмічалось паличкоядерних нейтрофілів. Загалом загальна кількість лейкоцитів статистично значимо зменшувалась майже на 35% порівняно з кров'ю із ранки та майже на 30% порівняно з кров'ю із медичної п'явки через 30 хв. після відпадання від тіла людини, але була вищою на понад 40% за інтактну венозну кров (вміст лейкоцитів, відповідно: інтактна кров – $4,7 \pm 0,45$ Г/л, кров із ранки – $10,2 \pm 0,06$ Г/л, із травної системи п'явки через 30 хв. – $9,4 \pm 0,04$ Г/л, через 12 годин – $6,7 \pm 0,28$ Г/л, $p \leq 0,05$). Кількість нейтрофілів знижувалась (паличкоядерні – 0%, сегментоядерні – $53,4 \pm 3,63\%$) порівняно з інтактною венозною кров'ю (паличкоядерні – $9,3 \pm 1,69\%$, сегментоядерні – $54,7 \pm 3,51\%$), за рахунок апоптотичних та некротичних процесів. Як відомо полінуклеарні лейкоцити є першою лінією захисту. Кількість моноцитів та лімфоцитів підвищувалась порівняно з інтактною кров'ю.

Через 1 та 2 доби після годування, кількість лейкоцитів у травній системі медичної п'явки статистично значимо знижувалась ($6,9 \pm 0,64$ Г/л та $6,3 \pm 0,68$ Г/л, відповідно), порівняно з кров'ю із ранки тіла ($10,2 \pm 0,06$ Г/л) та з п'явки через 30 хв. після годування на тілі людини ($9,4 \pm 0,04$ Г/л, $p \leq 0,05$), але через 1 добу після годування була статистично значимо більшою ($p \leq 0,05$) за інтактну кров ($4,7 \pm 0,45$ Г/л), а через 2 доби – статистично не значимо більшою ($p > 0,05$); знижувалась кількість нейтрофілів, підвищувалась кількість лімфоцитів (табл. 1).

При аналізі крові з медичної п'явки в подальші дні (3-21 доба) досліду спостерігається наступна тенденція: зниження вмісту загальної кількості лейкоцитів та, зокрема, зниження кількості нейтрофілів, моноцитів і підвищення кількості лімфоцитів (табл. 1).

Починаючи з 22 по 31 добу досліду в частині проаналізованих препаратів (17-30%) не зустрічалось будь-яких форм лейкоцитів, у цих мазках спостерігався лише детрит – на гемолітичному фоні зустрічалися поодинокі азурофільні гранули (залишки зруйнованих клітин), а також паличко- та кокоподібні бактерії.

Через 32 доби лише в 50% проаналізованих препаратів зустрічались поодинокі лімфоцити. Через 36-40 діб у мікрооточенні системи травлення медичної п'явки на гемолітичному фоні в мазках зустрічалися лише поодинокі азурофільні гранули – тільце-продукти апоптозу лейкоцитів, залишки зруйнованих еритроцитів та паличко- та кокоподібні бактерії. Подібні дослідження інших учених, які стосуються тривалості зберігання різних мікроорганізмів у кишковому мікрооточенні медичної п'явки

показують, що більшість еритроцитів та лейкоцитів не руйнується в порожній системі травлення до 5-6 тижнів, а деякі лейкоцити, в тому числі й інвазовані, зберігаються протягом кількох місяців [7].

Максимальна тривалість існування окремих клітинних популяцій крові людини в мікрооточенні травної системи медичної п'явки представлена на рис. 1. Аналізуючи вибіркову динаміку виживання формених елементів крові та їх максимальну тривалість існування (спостереження тривало 40 діб), можна зробити такий загальний висновок, що виживання формених елементів крові людини в кишковому середовищі п'явки залежить, із одного боку, від захисних факторів медичної п'явки, з іншого – від еволюційно притаманих ознак формених елементів крові і плазми людини.

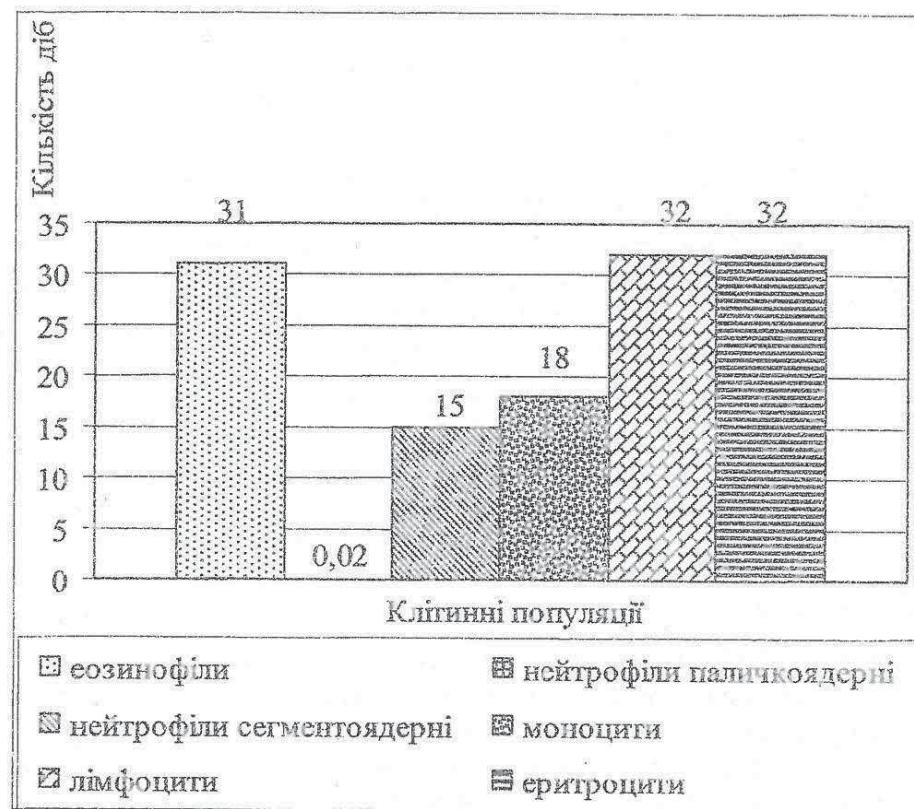


Рис. 1. Тривалість існування клітинних популяцій крові людини в мікрооточенні травної системи медичної п'явки

Із захисних ознак протидії з боку медичної п'явки реакції «трансплантація проти хазяїна» крові людини першим та демонстративним є згущення крові годувальника за рахунок швидкої дегідратації з неї води. Зовнішнім проявом даного процесу є реакція «погіння» медичної п'явки в процесі смоктання крові на тілі людини. Okрім супресивного імунологічного ефекту медична п'явка переслідує й іншу мету – накопичити якомога більше пластичних речовин у шлунковій кишці. Імуносупресивний вплив на лейкоцити здійснює також і антиадгезивний ефект біологічно активних речовин медичної п'явки.

До речі, даний ефект не описаний у літературі, тоді як відомо, що імунологічні властивості лейкоцитів крові проявляють у випадку серії адгезивних взаємодій: receptor-лігандних, міжклітинних, кооперативних.

Окрім вищевказаних факторів, які пригнічують імунологічні властивості лейкоцитів, у слизі медичної п'явки є група біологічно активних речовин, які цілеспрямовано пригнічують функції лейкоцитів – блокатори захисних реакцій організму [1]. Більшість із них виконує роль інгібіторів ферментів.

Негативна динаміка формених елементів крові годувальника, окрім інгібуючої дії з боку медичної п'явки, безперечно зумовлена їх філогенетичною функцією і реактивністю на змінене середовище існування. При цьому напрямок імунологічної відповіді залежить від відповідної імунологічної ситуації: продуктивний імуногенез або апоптоз і некроз. У мікрооточенні системи травлення медичної п'явки переважає останній вид.

Відомо, що життя та смерть будь-якої клітини залежить від генетичної програми даної клітини та від факторів навколошнього середовища. Так, баланс внутрішньоклітинних та позаклітинних факторів визначає, знаходиться певна клітина в стані спокою, проліферації, диференціювання чи на шляху до фізіологічної смерті. Запрограмована смерть клітин (апоптоз) займає важливе місце в імунійній відповіді організму. Механізмом апоптозу належить одне з провідних місць у виникненні запалення, імунодефіцитних станів, персистенції мікроорганізмів та у вивільненні організму від екзо- та ендогенних патогенів [8, 9]. Апоптотичні форми клітин мають суттєві морфологічні відмінності від нормальних. Отже, цілком зрозуміло, що клітини крові годувальника, які потрапили в незвичне мікрооточення системи травлення п'явки, реагують апоптотичними або ж некротичними змінами, проте потребують подальшого дослідження механізми забезпечення тривалого зберігання окремих клітин крові годувальника в організмі медичної п'явки. Так, поясненням цього факту може бути продуція бактерією-симбіонтом медичної п'явки біологічно активних речовин, серед яких деякі слугують інгібторами апоптозу або некрозу.

Так, першими реагують і слімінуються з порожнини системи травлення медичної п'явки лейкоцити, що відповідають за вродженну ланку імунітету: нейтрофіли, моноцити. Нейтрофіли, як клітини з кінцевою стадією диференціювання, реагують першими на змінене мікрооточення готовими імунологічними факторами, після чого апоптотуються, тобто вони запрограмовані на одноразову дію. Причому, наликовальні нейтрофіли апоптотуються швидше (на першому тижні), ніж зрілі сегментайдерні, кількість яких занжується поступово, аже через 2 тижні вони слімінуються (табл. 1).

Моноцити крові людини зустрічаються в мікрооточенні системи травлення медичної п'явки дещо дозвіле (до 18 діб), відсутні нейтрофіли, але їх основна популяція більш різко скорочується і вже на 4 днів складає $0,6 \pm 0,27\%$ (табл. 1), тобто 15% від їх вихідної кількості в крові із ранки тіла людини ($4,0 \pm 0,45\%$). Моноцити, як макрофаги, здатні після їх активації через систему відкритих нещодавно патерн-розвізнаючих рецепторів до бласттрансформації і розгортання білок-сміттєвичної системи, синтезу імунологічних факторів і навіть обмеженої проліферації. Патерн-розвізнаючі рецептори розпізнають філогенетично стабільні послідовності біополімерних структур, широко розповсюджених в органічному світі [10]. Вони є й на клітинах кишкового спілту медичної п'явки. Але під дією інгібуючих факторів п'явки в зміненому мікрооточенні без адитивної підтримки цитокінів імуногенез моноцитів після активації завершується апоптозом.

Лімфоцити, як клітини адагтивного імунітету, потребують для своєї активації кооперативної взаємодії з антиген-представлюючими клітинами, перш за все, відродженого імунітету (дендритними клітинами, макрофагами, з комплексами антигенспецифічних і антигенноспецифічних сигналів). Тому, при їх відносній нестачі і наявності інгібуючих факторів медичної п'явки, активація лімфоцитів відбувається пролонговано, тобто її апоптоз відбувається довше, тому окремі лімфоцити зберігаються протягом місяця і більше в агресивному мікрооточенні травної системи медичної п'явки.

Життездатність еритроцитів, як відносно ареактивних в імунних реакціях клітин, повністю залежить від літичних факторів мікрооточення травного тракту медичної

п'явки. Остання, пристосувалась утилізувати їх структури пролонговано, чим пояснюється факт наявності в мікрооточенні системи травлення медичної п'явки окремих еритроцитів людини більше місяця (32 доби), а гемолітична маса зберігається в них не загниваючись більше року.

Протягом всього експерименту (до 40 діб) в мазках крові були присутні еритроцити. Так, у зразках крові з ранки тіла людини еритроцити мали звичну форму, тоді як у зразках крові з травної системи п'явки через 30 хвилин після відпадання від тіла людини – більшість еритроцитів звичної форми, зустрічались акантоцити, частина еритроцитів реагувала гемолізом. Вже через 12 годин у крові донорів із системи травлення п'явки на гемолітичному фоні частина еритроцитів – звичної форми, проте додаються інші морфологічні форми (акантоцити, серповидні, овальні та ін.). Ця картина еритроцитів спостерігається до 32 доби досліду, але зменшується загальна кількість еритроцитів та, зокрема, нормоцитів, а з 7-8 доби – зустрічаються лише поодинокі еритроцити звичної (нормальної) форми.

Дивним феноменом було тривале виживання в кишковому оточенні медичної п'явки еозинофілів. Їх кількість зберігалась майже на одному рівні впродовж досліду. Цей факт зареєстрований нами вперше і є перспективним для подальшого наукового вивчення і пояснення. Але можна припустити, що виявлений феномен пов'язаний із їх функціональними властивостями. Так, еозинофіли, як і всі сегментоядерні лейкоцити, є клітинами кінцевого диференціювання з інактивованим ядром. Їхня функція полягає в активній участі в запальних реакціях, вони також здатні до позаклітинного кілінгу, переважно проти багатоклітинних паразитичних еукаріот [11, 12]. Напевно остання властивість і забезпечує їх тривалу стійкість у травному тракті медичної п'явки.

Отже, протягом знаходження лейкоцитів крові людини в мікрооточенні травної системи медичної п'явки їх ефекторні реакції під впливом пригнічуючих факторів п'явки трансформувались в апоптотичні та некротичні.

ВИСНОВКИ

1. Максимальна тривалість існування клітинних популяцій крові годувальника в травній системі медичної п'явки наступна: еозинофіли зустрічаються до 31 доби, нейтрофіли — до 15 діб, моноцити — до 18 діб, окрім лімфоциті та еритроцити — до 32 діб.
2. Ефекторні реакції лейкоцитів крові людини в мікрооточенні системи травлення медичної п'явки під впливом її пригнічуючих факторів трансформуються в апоптотичні та некротичні, що є позитивним фактором для життєздатності п'явки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Каменев О. Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии : руководство для врачей / О. Ю. Каменев, А. Ю. Барановский. — СПб. : ИГ «Весь», 2006. — 304 с.
2. Гирудотерапия : руководство / под ред. В. А. Савинова. — М. : ОАО «Издательство «Медицина», 2004. — 432 с.
3. Функциональная резистентность форменных элементов крови человека в кишечнике медицинской пиявки / [Фролов А.К., Копейка В.В., Федотов Е.Р., Новосад Н.В.] // Материалы VIII Конференции Ассоциации гирудологов России и стран СНГ. — М. : Гирудо-мед., 2003. — С. 79-80.
4. Лукин Е. И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов : Фауна СССР / Е. И. Лукин. — Л. : Наука, 1976. — 484 с.

5. Клиническая лабораторная диагностика : методы исследования : учеб. пособие для студентов вузов / [Зупанец И.А., Мисюрова С.В., Прописнова В.В. и др.] ; под ред. И.А. Зупанца. — [3-е изд.]. — Харьков: Изд-во НФаУ : Золотые страницы, 2005. — 200 с.
6. Определитель бактерий Берджи. Т. 1 / [под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса ; пер. с англ. под ред. Г. А. Заварзина]. — М. : Мир, 1997. — 432 с.
7. Experiments on the possible role of leeches as vectors of animal and human pathogens: a light and electron microscopy study / [Nehili M., Ilk C., Mehlhorn H., Ruhnau K. et al.] // Parasitol Res. — 1994. — № 80. — P. 277-290.
8. Барышников А. Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А. Ю. Барышников, Ю. В. Шишкін. — М. : Эдиториал УРСС, 2002. — 320 с.
9. Лаврик И. Н. Регуляция апоптоза, индуцируемого через CD95/FAS и другие «Рецепторы смерти» / И. Н. Лаврик // Молекулярная биология. — 2011. — Т. 45, № 1. — С. 173-179.
10. Хайтов Р. М. Роль паттерн-распознающих рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете / Р. М. Хайтов, М. В. Пащенков, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2009. — № 1. — С. 66-76.
11. Григорьева Е. С. Механизмы нарушения цитокинопосредованной регуляции апоптоза эозинофилов при больших эозинофилиях крови : дис. ... кандидата мед. наук : 14.00.16, 03.00.25 / Екатерина Сергеевна Григорьева. — Томск, 2007. — 139 с.
12. Rothenberg M. E. The Eosinophil / M. E. Rothenberg, S. P. Hogan // Annu. Rev. Immunol. — 2006. — № 24. — P. 147-174.

УДК 577.151.63: 616.72-002.77

МЕТАБОЛІЧНА АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ХВОРІХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

Новосад Н.В., к.б.н., доцент, Горохівець Н.А., магістр,
Подимай А.Ю, студент, Гавриленко К.В., студент

Запорізький національний університет

Досліджений стан ключових кисеньзалежної та кисеньнезалежної метаболічних систем нейтрофілів крові у хворих на ревматоїдний артрит. Встановлено, що у хворих на ревматоїдний артрит активну роль бере кисеньзалежна метаболічна система нейтрофілів, про що свідчать більш виражені зміни активності міелопероксидази, ніж рівень катіонних білків.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, міелопероксидаза, катіонні білки, ревматоїдний фактор, С-реактивний білок

Новосад Н.В., Горохівець Н.А., Подимай А.Ю, Гавриленко К.В. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ / Запорожский национальный университет, Украина

Исследовано состояние ключевых кислородзависимой и кислороднезависимой метаболических систем нейтрофилов крови у больных ревматоидным артритом. Установлено, что у больных ревматоидным артритом активное участие принимает кислород зависимая метаболическая система нейтрофилов, о чем свидетельствуют более выраженные изменения активности миелопероксидазы, чем уровень катионных белков.