

В.К. Сирцов¹, О.К. Фролов², О.Г. Алієва¹, М.А. Волошин¹, Р.О. Литвиненко²

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ *HIRUDO VERBANA* ПІСЛЯ ГИРУДОТЕРАПЕВТИЧНОЇ ПРОЦЕДУРИ

¹Запорізький державний медичний університет,

²Запорізький національний університет

Ключові слова: медична п'явка, ботріоїдна тканина, кишковий епітелій, гірудотерапія.

Виконано гістологічне дослідження морфофункціональних особливостей середньої кишки та прилеглої сполучної і ботріоїдної тканин *H. verbana* у голодному стані та на 12 добу після годування кров'ю людини. Встановлено, що у голодної п'явки кишковий епітелій і прилегла ботріоїдна тканина знаходяться у неактивному стані. Морфофункціональні зміни в середній кишці *H. verbana* після годування полягають у змінах висоти епітелію через надмірне розтягнення при наповненні кров'ю, змінах його вуглеводного складу та рівня вакуолізації. Ботріоїдна тканина п'явок після годування реагує на надходження продуктів перетравлення посиленням васкуляризації, збільшенням рівня накопичення вуглеводовмісних сполук, активацією частини ботріоїдних гранулоцитів. Виявлені особливості є результатом нормальних фізіологічних процесів – поглинання та накопичення пластичних речовин.

Морфофункциональные особенности *Hirudo verbana* после гирудотерапевтической процедуры

В.К. Сырцов, А.К. Фролов, Е.Г. Алиева, Н.А. Волошин, Р.А. Литвиненко

Проведено гістологічне дослідження морфофункціональних особливостей середньої кишки та супутньої сполучної і ботріоїдної тканин *H. verbana* в голодному стані та на 12 днів після годування кров'ю людини. Встановлено, що у голодної п'явки кишковий епітелій і прилегла ботріоїдна тканина знаходяться в неактивному стані. Морфофункціональні зміни в середній кишці *H. verbana* після годування заключаються в зміні висоти епітелію через надмірне розтягнення при наповненні кров'ю, зміні його вуглеводного складу та рівня вакуолізації. Ботріоїдна тканина п'явок після годування реагує на надходження продуктів перетравлення посиленням васкуляризації, збільшенням рівня накопичення вуглеводовмісних сполук, активацією частини ботріоїдних гранулоцитів. Виявлені особливості є результатом нормальних фізіологічних процесів – поглинання та накопичення пластичних речовин.

Ключевые слова: медицинская пиявка, ботриоидная ткань, кишечный эпителий, гирудотерапия.

Morpho-functional features of *Hirudo verbana* after girudotherapeutic procedure

V.K. Sirtsov, A.K. Frolov, E.G. Aliyeva, N.A. Voloshin, R.A. Litvinenko

Histological study of morpho-functional characteristics of the crop (midgut), associated connective and botryoidal tissue *H. verbana* in a hungry state and in 12 days after human blood feeding was carried out. It was established that in hungry leech intestinal epithelium and surrounding botryoidal tissue are in an inactive state. Morpho-functional changes in the midgut of *H. verbana* after feeding are expressed in changes of the epithelium height due to excessive stretching with blood filling, in changes of its carbohydrate composition and the level of vacuolization. Botryoidal tissue of leeches after feeding reacts to the receipt of digestion products in increase of the vascularization, increase of carbohydrates levels containing substances accumulation, activation of some botryoidal granulocytes. These features are the result of normal physiological processes — absorption and accumulation of plastic materials.

Key words: medicinal leech, botrioidal tissue, intestinal epithelium, leeching.

Нині гірудотерапія (ГТ) як натуропатичному методу лікування, що майже не має побічних ефектів, належить одне з провідних місць серед методів традиційної медицини. Організм медичної п'явки продукує комплекс унікальних природних біологічно активних речовин (БАР) [1–4], для яких не потрібно витрат на виділення, очистку та засоби введення, всі БАР самовільно надходять до організму людини або тварини при укусі. Це дозволяє розглядати п'явку як ідеальний інструмент для вирішення широкого кола ендоекологічних проблем. При постановці п'явок терапевтичний вплив здійснюється на кількох рівнях: крім усунення конкретного захворювання, ГТ сприяє підвищенню загальної резистентності організму, активізації імунної системи [1,2].

За біологічною сутністю медичні п'явки – кровосисні ектопаразити, що ведуть активний спосіб життя в пошуках своїх жертв, мають відповідну спеціалізацію: добре розви-

нену нервову систему, органи чуття, мускулатуру. До рис глибокої спеціалізації, наприклад, травної системи належить будова щелеп, наявність слинних залоз із секретом, що містить БАР, наявність виростів у шлунковій кишці тощо. У травному каналі п'явки живе бактерія-ендосимбіонт *Aeromonas hydrophila*, що відіграє основну роль у перетравленні білків, жирів і вуглеводів, бере участь у підтримці рідкого стану поглиненої крові [1]. Ці адаптаційні механізми свідчать про фізіологічну зумовленість способу життя медичних п'явок як ектопаразитів, що живуть вільно.

Однак не всі медичні п'явки добре долають імунологічну та бактеріальну атаку при годуванні нативною кров'ю ссавців, яка, крім пластичних речовин, несе й антигенне навантаження на організм п'явки, а також має власні цитотоксичні імунні фактори. Тому частина п'явок після годування на тілі людини не може впоратись із перетравленням «їжі» і помирає: відсоток смертності для аптечної п'явки



(*Hirudo verbana*, Carena, 1820) становить 0–2%, для східної (*H. orientalis*, S. Utevsky et Trontelj, 2005) – 3–5% [4].

Зрозуміло, першим на шляху захисту від негативних впливів у гематофагів є кишечник. При цьому у медичної п'явки у процесі еволюції сформувались спеціальні пристосування до паразитичного способу життя та механізми для подолання зовнішньої агресії, яку несе нативна кров жертви-годувальника, зокрема симбіоз із бактерією *A. hydrophila* [1,2,4], продукція антимікробних пептидів тощо [5].

Однак у сучасній науковій літературі відсутні роботи, що можуть пояснити причини загибелі п'явок. Також відсутні дані про морфологічні зміни в органах *H. verbana* після гірудотерапевтичної процедури.

МЕТА РОБОТИ

Вивчення морфофункціональних особливостей внутрішніх органів і тканин аптечної медичної п'явки (*H. verbana*) після годування нативною кров'ю людини.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент виконано на статевозрілих особинах *H. verbana* віком 7 місяців, розподілених на 2 групи по 15 особин у кожній: 1) контрольна група – голодні товарні п'явки, у котрих останнє годування кров'ю великої рогатої худоби було 3 місяці тому; 2) інтактні ситі п'явки, годування яких виконали кров'ю людини при гірудотерапевтичній процедурі через 3 місяці голодування та зафіксували через 12 діб.

П'явки вирощені на базі навчально-науково-дослідної лабораторії клітинної та організменної біотехнології Запорізького національного університету відповідно до Технічних умов ТУ У 05.0-02125243-002:2009 «П'явка медична» (санітарно-епідеміологічний висновок МОЗ України № 05.03.02-06/49982, від 12.08.2009 р.).

Гірудотерапевтичну процедуру виконували на здорових добровольцях-жінках віком 20–30 років, які не вживали медичних препаратів та інших токсичних сполук. Гістологічні зрізи, отримані з передньої, середньої, задньої третин тіла, пофарбовані гематоксиліном і еозином і реактивом Шиффа з дофарбовуванням ядер гематоксиліном [6]. Аналізували гістологічні та гістохімічні особливості будови тіла п'явок, особливу увагу приділяли структурно-функціональним особливостям будови середнього відділу травної системи (шлункова кишка) та прилеглої сполучної та ботріюїдної тканин.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При аналізі гістологічних зрізів голодної *H. verbana* встановлено, що шлункова (середня) кишка, розміщена в центральній частині зрізу, має два сліпі бічні вирости (кишені), відокремлені від центрального каналу перегородками. Кишковий епітелій одношаровий, складається переважно з кубічних або низьких циліндричних клітин, розташований на базальній мембрані. Слизова утворює численні складки, просвіт спалий, заповнений рештками кров'яної маси від попередніх годувань, має різку ШИК⁺-реакцію. Епітеліальні клітини в апікальній поверхні мають численні світлі вакуолі, у базальній частині вакуолі дрібні. Вакуолі, ймовірно, є колишніми жировими включеннями, що при виготовленні пре-

парату розчиняються й утворюють цей артефакт [7]. Ближче до базальної частини цитоплазма слабко оксифільна і має неоднорідне слабке рожеве забарвлення реактивом Шиффа.

Ядра епітеліальних клітин щільні, округлої або овальної форми, без чіткої полярності локалізації (можуть розташовуватись як у базальній, так і в апікальній частинах). Хроматин конденсований, ядерця не виражені. У складках в епітеліальному пласті виявляються дрібні клітини з оксифільною цитоплазмою, базальним ядром і слабкою вакуолізацією (ймовірно, їхнє призначення – регенерація). Апікальна частина цих клітин не досягає поверхні епітеліального пласта. При забарвленні гематоксилін-еозином на апікальній поверхні епітеліоцитів розташований тонкий шар оксифільної речовини. На бічних поверхнях шлункової кишки, де епітелій розтягнутий, оксифільна речовина відсутня.

Простір між шкірно-м'язовим мішком і кишковою порожниною заповнений ботріюїдною тканиною (the botryoidal tissue), що прилягає до кишки, та грубоволокнистою сполучною тканиною, котра складається з сильно видовжених опорних сполучнотканинних клітин з одним або двома довгими відростками, невеликими темними ядрами та вакуолізованою цитоплазмою. Трапляються амебоцити з короткими відростками (макрофагоподібні клітини) та жирові клітини округлої форми, поодинокі лімфоцитоподібні клітини, а також одиничні вільні гранулоцити, ймовірно, гранулоцити I типу [8]. Ботріюїдна тканина – це оксифільна порожниста структура і складається з округлих клітин з еозинофільною цитоплазмою та світлими ядрами. В ній виявляються два типи клітин: зернисті ботріюїдні та плоскі ендотеліюподібні. Більшість клітин ботріюїдної тканини щільно розташовані навколо каналів капілярної сітки лакунарної системи, яка розміщена під поздовжнім шаром м'язових волокон. Основна маса клітин перебуває в неактивному стані, форма клітин сплюснена, зернистість виражена слабко або відсутня. У місцях основи складок і біля дорзальної судини, в латеральних частинах (вище шлункової кишки) виявляються одиничні активовані клітини. Цитоплазма активованих клітин ботріюїдної тканини має помірну ШИК⁺-реакцію, гранули реактивом Шиффа не забарвлюються (клітини однорідні). Берегові (ендотеліюподібні) клітини лакун ботріюїдної тканини забарвлюються реактивом Шиффа інтенсивніше. Лакуни ботріюїдної тканини знаходяться переважно в спалому неактивному стані.

У *H. verbana* через 12 діб після годування виявлено наступні особливості гістологічної структури. Шлункова кишка з бічними виростами збільшена в розмірі, заповнена кров'ю годувальника. Сполучна тканина за структурою сильно не відрізняється від такої у голодної п'явки, за винятком змін, пов'язаних із розтягуванням тіла п'явки.

Встановлено, що кишковий епітелій розтягнутий, з рівною апікальною поверхнею, інтенсивно забарвлений у базальній частині, а вакуолі апікальної частини погано візуалізуються. Ядра епітеліоцитів знаходяться як в апікальній, так і в базальній частинах. Інтенсивність ШИК-реакції значно вища, ніж у голодної п'явки. В епітелії відзначається дрібна зерниста структура. Великі вакуолі в незначній кількості збережені тільки в ділянках глибоких складок.



Поглинута кров годувальника гетерогенної структури, в ній визначаються окремі еритроцити. При ШИК-реакції є ділянки крові з різко інтенсивним забарвленням (імовірно, відбувся лізис еритроцитів за рахунок гемолізину, що продукує *A. hydrophila*, бактерія-ендосимбіонт системи травлення медичної п'явки).

Ботріодна тканина *H. verbana* крупнокірчаста, містить волокна, інтенсивно забарвлені реактивом Шиффа. У ботріодній тканині ситої п'явки, у порівнянні з такою у голодної, суттєво збільшується кількість активованих гранулоцитів, що утворюють скупчення навколо кишень і, особливо, в ділянках основи складок і перегородок шлункової кишки, а також біля лакунарних судин. У сполучній тканині збільшується кількість лакун і капілярів, що формуються за рахунок активації ботріодних клітин (гранулоцитів). Активовані клітини ботріодної тканини оточують лакуни, вони представлені великими клітинами куполоподібної форми, оберненої всередину, мають інтенсивнішу ШИК-реакцію темного кольору. Посилення ШИК⁺-реакції в ботріодній тканині свідчить про збільшення вмісту глікозаміногліканів.

Виявлені морфофункціональні особливості тканин *H. verbana* через 12 діб після годування нативною кров'ю донорів не мають явних патологічних відхилень від контролю. Значне посилення ШИК-реакції у ситої п'явки, ймовірно, вказує на активацію процесів травлення як фізіологічну реакцію на надходження джерела поживних речовин. Цитоплазма гранулоцитів ботріодної тканини годованої п'явки накопичує різні включення, серед них жовто-коричневі зерна екскреторної природи, що містять продукти розпаду гему [9]. Істотне збільшення кількості активованих гранулоцитів, що утворюють скупчення навколо шлункової кишки та лакунарних каналів, збільшення кількості лакун і капілярів у сполучній тканині, що формуються за рахунок активації гранулоцитів ботріодної тканини, також пов'язано з активними пластичними та синтетичними процесами, котрі відбуваються в організмі п'явки.

ВИСНОВКИ

1. Морфофункціональні зміни в середній кишці *H. verbana* на 12 добу після годування кров'ю людини полягають у змінах висоти епітелію через надмірне розтягнення при

наповненні кров'ю, змінах його вуглеводного складу та рівня вакуолізації.

2. Ботріодна тканина реагує на надходження продуктів перетравлення посиленням васкуляризації, збільшенням рівня накопичення вуглеводмісних сполук, активацією частини ботріодних гранулоцитів.

3. Виявлені особливості є результатом нормальних фізіологічних процесів – поглинання та накопичення пластичних речовин.

4. Вважаємо перспективними подальші гістологічні та гістохімічні дослідження, що стосуються морфофункціональних змін в органах п'явок при патологічному реагуванні на годування нативною кров'ю ссавців, яке завершується смертю п'явки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

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. Hirudotherapy / Leech therapy : Applications and Indications in Surgery / S. Abdullah, L. M. Dar, A. Rashid, A. Tewari // Arch. Clin. Exp. Surg. – 2012. – Vol. 1, №3. – P. 172–180.
4. Рассадина Е.В. Экологически обоснованная биотехнология воспроизводства *Hirudo medicinalis* L. в лабораторных условиях: дис. ... к. биол. наук : 03.00.23, 03.00.16 / Рассадина Екатерина Владимировна. – Ульяновск, 2006. – 199 с.
5. Silver A.C. Innate and procured immunity inside the digestive tract of the medicinal leech / A...C. Silver, J. Graf // Invertebrate Surviv. J. – 2011. – Vol. 8, №2. – P. 173–178.
6. Ромейс Б. Микроскопическая техника: [монография] / Б. Ромейс; пер. с нем. В.Я. Александрова, З.И. Крюковой; под ред. И.И. Соколова. – М.: Изд-во иностр. лит., 1953. – 718 с.
7. Большой практикум по зоологии беспозвоночных: учеб. пособие [для студентов биолог. спец. ун-тов] / Иванов А.В., Мончадский А.С., Полянский Ю.И., Стрелков А.А. – М.: Высш. шк., 1983. – Ч.2: Типы: Кольчатые черви, Членистоногие. – 543 с.
8. Different types of response to foreign antigens by leech leukocytes / M. de Eguileor, A. Grimaldi, G. Tettamanti [et al.] // Tissue Cell. – 2000. – №32. – P. 40–48.
9. Bradbury S. The botryoidal and vaso-fibrous tissue of the leech *Hirudo medicinalis* / S. Bradbury // Quarterly Journal of Microscopical Science. – 1959. – Vol. s3-100. – P. 483–498.

Відомості про авторів:

Сирцов В.К., д. мед. н., професор, зав. каф. гістології, цитології та ембріології ЗДМУ, віце-президент Міжнародної академії сімейної медицини, нетрадиційних і природних методів лікування, академік Міжнародної академії інтегративної антропології.

Фролов О.К., д. мед. н., професор каф. імунології та біохімії, зав. наукової лабораторії клітинної та організмової біотехнології ЗНУ.

Алієва О.Г., к. біол. н., доцент каф. гістології, цитології та ембріології ЗДМУ.

Волошин М.А., д. мед. н., професор, зав. каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії ЗДМУ, заслужений діяч науки та техніки України, академік міжнародної академії інтегративної антропології.

Литвиненко Р.О., аспірант каф. імунології та біохімії ЗНУ.

Поступила в редакцію 21.05.2013 г.