МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Кваліфікаційна робота
магістра

на тему: ЛЕЙКОЦИТАРНІ ІНДЕКСИ КРОВІ НЕЛІНІЙНИХ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ ПРИ ГІРУДОВПЛИВІ

Виконала: студентка2 курсу, групи 8.0914-з
спеціальності 091 Біологіята біохімія
освітньої програми Біологія
К. В.Сідченко_____
Керівник к.б.н., доцент Литвиненко Р.О._____
Рецензент к.б.н., доцент Копійка В.В._____

Запоріжжя – 2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біологічний
Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини
Рівень вищої освіти магістр
Спеціальність 091 Біологія та біохімія
Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри О.Г. Кущ
_____
“___” _____ 2024 року

З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ
Сідченко Карині Вячеславівні

1. Тема роботи: Лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі_____
керівник роботи Литвиненко Раїса Олександрівна, к.б.н._____
затверджені наказом ЗНУ від « 28 » березня 2025 р. № 454-с
2. Строк подання студентом роботи грудень 2025 року
3. Вихідні дані до роботи: аналіз літературних джерел за темою дослідження.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) дослідити загальну кількість лейкоцитів крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*; 2) проаналізувати лейкоцитарну формулу крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*; 3) розрахувати окремі лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*._____
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень): 4 таблиці, 5 рисунків._____

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
4	к.б.н., доц. Гороховський Є.Ю.		

7. Дата видачі завдання: _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1	Пошук та аналіз літературних джерел за темою кваліфікаційної роботи.	листопад 2024 - травень 2025	Виконано
2	Написання розділу «Огляд наукової літератури».	травень 2025 - липень 2025	Виконано
3	Підбір матеріалів і методів для виконання дослідження, формування розділу «Матеріали та методи дослідження»	квітень 2025- липень 2025	Виконано
4	Оформлення розділу «Охорона праці»	квітень 2025 - серпень 2025	Виконано
5	Збір та аналіз даних експериментального дослідження, їх статистична обробка.	червень 2025- вересень 2025	Виконано
6	Формування розділу «Експериментальна частина», висновків та практичних рекомендацій.	вересень 2025 – листопад 2025	Виконано
7	Оформлення і попередній захист кваліфікаційної роботи.	листопад 2025	Виконано
8	Подання роботи до захисту.	грудень 2025	Виконано

Студентка К.В. Сідченко
Керівник роботи Р.О. Литвиненко

Нормоконтроль пройдено
Нормоконтролер Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 75 сторінках. Проаналізовано 81 літературне джерело (42 іноземних). Робота містить 4 таблиці, 5 рисунків.

Об’єкт дослідження – кров нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Предмет дослідження – лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Мета – дослідити лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Методи дослідження: гематологічні, імунологічні, статистичні.

Теоретично та експериментально доведено, що при гірудовпливі відбуваються статистично значимі зміни лейкоцитарних показників та лейкоцитарних індексів крові, що проявляються в нормалізації показників запальної реакції, зниженні рівня інтоксикації та покращенні імунного гомеостазу. Ці зміни зумовлені дією біологічно активних речовин слини медичної п’явки, які впливають на перебіг запальних та імунорегуляторних процесів.

Новизна роботи. Доповнено дані, що зміни інтегральних гематологічних параметрів можуть служити об’єктивними аналітичними критеріями при оцінці впливу гірудотерапії.

Значущість роботи полягає у тому, що результати досліджень відкривають перспективу використання компонентів секрету слини медичної п’явки для розробки нових препаратів, здатних модулювати імунну відповідь.

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, МЕДИЧНА П’ЯВКА, *HIRUDO VERBANA*, НЕЛІНІЙНІ ЛАБОРАТОРНІ ЩУРИ, ЛЕЙКОЦИТАРНІ ІНДЕКСИ, КРОВ.

ABSTRACT

The work is presented on 75 pages. 81 literary sources (42 foreign) were analyzed. The work includes 4 tables, 5 figures.

The object of the study is the blood of nonlinear laboratory rats under hirudoinfluence of the species *Hirudo verbana*.

The subject of the study is the leukocyte indices of the blood of nonlinear laboratory rats under hirudoinfluence of the species *Hirudo verbana*.

The aim is to investigate the leukocyte indices of the blood of nonlinear laboratory rats under hirudoinfluence of the species *Hirudo verbana*.

Research methods: hematological, immunological, statistical.

It has been theoretically and experimentally proven that during hirudoinfluence statistically significant changes in leukocyte indices and leukocyte indices of the blood, which are manifested in the normalization of inflammatory reaction indicators, a decrease in the level of intoxication and improvement of immune homeostasis. These changes are due to the action of biologically active substances of medicinal leech saliva, which affect the course of inflammatory and immunoregulatory processes.

Novelty of the work. It was found for the first time that changes in integral hematological parameters can serve as objective analytical criteria in assessing the effect of hirudotherapy.

The significance of the work lies in the fact that the results of studies open up the prospect of using components of medicinal leech saliva secretion for the development of new drugs capable of modulating the immune response.

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES, MEDICINAL LEECH, *HIRUDO VERBANA*, NON-LINEAR LABORATORY RATS, LEUKOCYTE INDEXES, BLOOD.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ……8
ВСТУП……..9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ……..12
1.1 Біологічно активні речовини медичної п’явки та їх терапевтичні ефекти…12
1.2 Моделі дослідження впливу біологічно активних речовин медичної п’явки на лабораторних щурах ……....22
1.3 Інтегральні лейкоцитарні індекси як доступні та інформативні показники для моніторингу функціонального стану імунної системи……...30
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ……37
2.1 Об’єкт дослідження…….37
2.2 Методи дослідження……...38
2.2.1 Підрахунок кількості лейкоцитів нелінійних лабораторних щурів у камері Горяєва……....38
2.2.2 Виготовлення та фарбування мазка крові нелінійних лабораторних щурів……...40
2.2.3 Визначення лейкоцитарної формули крові нелінійних лабораторних щурів …….40
2.2.4 Дослідження лейкоцитарних індексів периферичної крові нелінійних лабораторних щурів……..41
2.2.5 Статистичні методи дослідження……...45
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА……...49
3.1 Лейкоцитарні показники крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі ……..49
3.2 Лейкоцитарні індекси нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі……...53
4 ОХОРОНА ПРАЦІ…….58

ВИСНОВКИ……...65
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ……...66
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ…….....67

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

БАР – біологічно активні речовини

ІЛГ – індекс лімфоцитарно-гранулоцитарний

ІСЕЛ – індекс співвідношення еозинофілів до лімфоцитів

ІСЛЕ – індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів

ІСЛМ – індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів

ІСЛНс – індекс співвідношення лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів

ІСНЛ – індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів

ІСНМ – індекс співвідношення нейтрофілів до моноцитів

ІСНпЛ – індекс співвідношення паличкоядерних нейтрофілів до лімфоцитів

ІСНсМ – індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до моноцитів

ІСНсНп – індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до паличкоядерних нейтрофілів

МП –медична п’явка

ВСТУП

У сучасній експериментальній біології та медицині все більшої уваги набуває вивчення природних методів регуляції природних процесів організму, серед яких особливе місце займає гірудотерапія – лікування з використанням медичних п’явок (*Hirudo verbana*) [1]. Попри багатовікову історію застосування, інтерес до цього методу не згасає, а навпаки – посилюється у зв’язку з необхідністю пошуку альтернативних, малотоксичних і природних способів впливу на гемостаз організму.

Актуальність теми зумовлена тим, що вплив біологічно активних речовин (БАР) медичної п’явки (МП) на системи кровотворення, зокрема на показники лейкоцитарної ланки, залишається недостатньо вивченим. Лейкоцитарні індекси є доступними та інформативними інтегральними показниками, які відображають не лише кількісні зміни клітин крові, а й функціональний стан імунної системи, реактивність організму та рівень його стресової відповіді [2]. Саме тому дослідження лейкоцитарних індексів у тварин після гірудовпливу має важливе наукове й практичне значення для розуміння механізмів імуномодулювальної дії БАР слини п’явок, таких як гірудин, бделіни, егліни, гістаміноподібні сполуки та інші.

У науковій літературі наявні окремі роботи, присвячені дослідженню впливу гірудотерапії на гематологічні показники (наприклад, Д. Ахтямова, З. Кочерга, І. Лембрик, Я. Приходько, О. Тимощук та інші) однак більшість із них мають клініко-прикладний характер і стосуються людини або великих тварин. Дослідження лейкоцитарних індексів лабораторних щурів, які є однією з найпоширеніших біомоделей у фізіології та токсикології, представлені недостатньо, а системний аналіз змін у лейкоцитарній формулі після гірудовпливу фактично відсутній.

Зарубіжні дослідження (наприклад, H. Barz, L. Beka, D. Gonue, S. Kvist, H. Nair, A. Sig, A. Tasiemski та інші) свідчать про широкий спектр біологічної

активності компонентів слини медичної п’явки, які впливають на запальні, імунні та коагуляційні процеси. Водночас питання лейкоцитарної відповіді на гірудотерапію розглядається фрагментарно, без детального аналізу змін у співвідношеннях між основними клітинними популяціями. Отже, сучасний стан проблеми характеризується браком експериментальних даних про вплив біологічно активних речовин медичної п’явки на клітинну ланку імунітету, що обмежує можливість обґрунтування механізмів лікувальної дії гірудотерапії з позицій системної фізіології та гематології. Варто також відзначити, що для гірудотерапії використовують медичних п’явок різних видів, але найчастіше в країнах Європейського союзу – це *Hirudo verbana*, *H. medicinalis* та *H. orientalis*,які мають відмінності у складі БАР секрету слинних залоз. До того ж в лабораторних умовах вирощують на біофабриках найчастіше *H. verbana* та *H. medicinalis.* Таким чином, вибір теми кваліфікаційної роботи є обґрунтованим, а її виконання сприятиме подальшому розвитку експериментальної гематології, імунології та фізіології в контексті дослідження біологічних ефектів гірудовпливу.

Об’єкт дослідження – кров нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Предмет дослідження – лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Мета – дослідити лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Завдання дослідження:

1) дослідити загальну кількість лейкоцитів крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*;

2) проаналізувати лейкоцитарну формулу крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*;

3) розрахувати окремі лейкоцитарні індекси крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі видом *Hirudo verbana*.

Методологія та методи дослідження:

- теоретичні: аналіз, синтез, узагальнення та класифікація наукових джерел;
- експериментальні: гематологічні та імунологічні методи (підрахунок загальної кількості лейкоцитів, визначення лейкоцитарної формули крові, дослідження окремих лейкоцитарних індексів);
- статистичні: якісний та кількісний аналіз результатів.

Теоретична цінність роботи полягає у розширенні знань та уявлень про закономірності змін лейкоцитарних індексів крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі, що сприятиме глибшому розумінню ролі медичної п’явки як природного модулятора імунної відповіді.

Практична цінність роботи полягає у можливості використання отриманих даних для удосконалення методів біомедичних досліджень, оцінки фізіологічного стану експериментальних тварин при гірудовпливі, а також для розробки науково обґрунтованих підходів до застосування гірудотерапії у клінічній практиці. Також, результати проведеного дослідження можуть бути впроваджені у навчальні дисципліни біологічного та медико-біологічного спрямування.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Біологічно активні речовини медичної п’явки та їх терапевтичні ефекти

Актуальність дослідження гірудовпливу зумовлена зростанням зацікавленості у немедикаментозних, природних методах корекції патологічних станів та пошуком ефективних додаткових засобів лікування. Гірудотерапія, як метод впливу БАР слини МП, демонструє потенціал у зменшенні запальних процесів, покращенні мікроциркуляції та нормалізації реологічних властивостей крові, проте механізми її дії залишаються недостатньо вивченими. Тому наукове дослідження гірудовпливу є важливим для обгрунтування ефективності та безпечності цього методу, визначення його показань і протипоказань, а також інтеграції у сучасні підходи до комплексної терапії різних захворювань [1]. Отже, попри багатовікову історію застосування, інтерес до цього методу не згасає, а навпаки – посилюється у зв’язку з необхідністю пошуку альтернативних, малотоксичних і природних способів впливу на гемостаз організму.

МП (*Hirudo verbana*) належать до типу кільчастих червів (Annelida), класу пояскових (Clitellata), ряду п’явок (Hirudinea). Це представник гематофагів – організмів, які живляться кров’ю теплокровних тварин і людини. Доросла особина має видовжене, сплюснуте тіло завдовжки 5-12 см, яке складається приблизно зі 100 сегментів. З обох боків тіла розташовані присоски: передня забезпечує фіксацію до тіла хазяїна і виконання укусу, задня – утримання під час живлення [3]. Світлину МП виду *Hirudo medicinalis* та *H. verbana* представлено на рисунку 1.1.



А Б

Рисунок 1.1 – МП виду *Hirudo medicinalis* (А) та *H. verbana* (Б) [3]

МП мешкають у чистих, прісних водоймах із проточною водою, відаючи перевагу теплій, добре насиченій киснем воді. У природі вони ведуть напівводний спосіб життя: активні у теплий сезон, а в холодний період впадають у стан спокою. Розмноження відбувається статевим шляхом, п’явки є гермафродитами. Кокони з яйцями відкладаються у вологий ґрунт поблизу водойм [3, 4].

Дослідження водно-болотних угідь провінції Бінголь [5] у 2017–2018 роках показало наявність семи видів п’явок (*Hirudo verbana, Glossiphonia complanata, Theromyzon tessulatum, Placopdella costata, Erpobdella octoculata, Erpobdella testacea та Piscicola geometra*), що належать до шести родів із чотирьох родин. Параметри води вимірювали на 13 станціях, а п’явки індентифікували за живими зразками в лабораторії. Результати свідчили, що ці місця є новими реєстрами для зазначених видів, підтверджуючи важливість п’явок як індикаторів якості води та біорізноманіття у водних екосистемах.

Дослідження зарубіжних вчених [6] показало, що деякі види п’явок активно використовують гнізда водоплавних птахів як місця проживання та частково як середовище для розмноження, хоча екологічні зв’язки між цими організмами досі недостатньо вивчені. Лабораторні спостереження показали, що вагітні п’явки віддають перевагу вологому торфу, а не гніздам, для

відкладання коконів. Загалом результати свідчать, що структура гнізда (наявність вологого та сухого шарів) та сезонні фактори значною мірою визначають використання пташиних гнізд п’явками.

В організмі п’явки відсутні бактерії та віруси, патогенні для людини, оскільки її травна система містить симбіотичні мікроорганізми, що пригнічують розвиток патогенної флори. Це забезпечує стерильність процесу кровосмоктання, що є важливим фактором у медичному застосуванні [7].

МП офіційно визнана фармакопейною тваринною сировиною. Для медичних цілей використовують спеціально вирощених п’явок на біофабриках, що гарантує стерильність та безпечність у клінічній практиці [8].

Дослідження [9] мікробіоти шлунково-кишкового тракту *Hirudoverbana*показало значні відмінності в складі бактерій між голодними п’явками, недавно нагодованими фермерськими особинами та дикими п’явками, при цьому відзначено присутність як навколишніх бактерій (Rhizobiaceae, Comamonadaceae та ін.), так і симбіотичних/пробіотичних мікроорганізмів (Mucivorans, Aeromonas, Vagococcus, Lactobacillales, Morganella). Виявлено кореляції між бактеріями навколишнього середовища та симбіотичними видами, що залежали від стану п’явки, джерела крові та умов утримання. Також уперше в *Hirudo verbana* виявлено умовно-патогенні мікроорганізми (рикетсії, анаплазми, трепонеми), що підкреслює необхідність ретельного контролю МП і перевагу тривалого голодування та вирощування на спеціалізованих фермах для безпечного використання в гірудотерапії.

У процесі еволюції медична п’явка виробила складний секрет у слинних залозах, який містить понад 100 різних біологічно активних речовин (БАР) білкової та небілкової природи. Ці речовини виконують широкий спектр функцій, спрямованих на забезпечення ефективного смоктання крові, попередження її згортання, зменшення запальної реакції в місці укусу та пригнічення імунної відповіді хазяїна [7]. Основні компоненти слини МП представлено на рисунку 1.2.

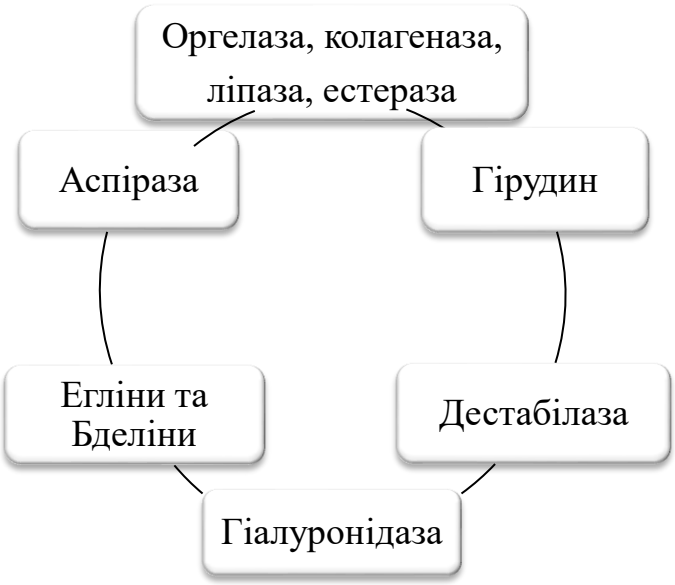


Рисунок 1.2– Основні компоненти слини МП [8]

Розглянемо основні компоненти слини МП більш детально [7, 8]:

- гірудин – найвідоміший антикоагулянтний білок, який блокує активність тромбіну, запобігаючи перетворенню фібриногену у фібрин; завдяки цьому кров не згортається під час живлення п’явки, а в організмі людини чи тварини після укусу спостерігається помірний локальний кровообіг;
- дестабілаза – фермент, що руйнує фібринові згустки і проявляє фібринолітичну активність; має також антибактеріальні властивості, перешкоджаючи розвитку інфекції в місці присмоктування;
- гіалуронідаза – фермент, який підвищує проникність тканин і судинних стінок, полегшуючи дифузію інших БАР у тканини;
- егліни та бделіни – білкові інгібітори протеаз, які мають виражену протизапальну дію, пригнічують активність ферментів запалення, зменшують набряк і больові відчуття;
- апіраза – фермент, що гальмує агрегацію тромбоцитів, знижуючи ризик утворення тромбів;
- оргелаза, колагеназа, ліпаза, естераза – ферменти, які беруть участь у розщепленні різних структурних компонентів тканин, покращуючи мікроциркуляцію та обмін речовин у зоні впливу.

МП здавна використовувалися в медицині завдяки їхній здатності виділяти БАР, а сучасні дослідження [10, 11] підтвердили терапевтичний потенціал їхньої слини, що містить антитромбін, антиагреганти, інгібітори факторів згортання та антибактеріальні компоненти. Завдяки цим властивостям гірудотерапію застосовують у лікуванні широкого спектра захворювань – від серцево-судинних та інфекційних до онкологічних і хронічних патологій. А в XX столітті вона стала важливою частиною пластичної і мікрохірургії для запобігання венозному застою під час відновлення тканин. Метод також поширився у косметології, однак попри значний лікувальний потенціал залишаються актуальними питання його безпеки та ризику ускладнень, що зумовлює необхідність подальшого дослідження та обережного застосування [11].

Завдяки такому комплексу біоактивних сполук слина МП є унікальним природним «фармацевтичним коктейлем», що має потенціал для широкого медичного використання.

Зарубіжні дослідження [11, 12] описують харчову поведінку та фізіологію МП, показуючи, що під час одного годування вони виділяють у рану практично весь запас БАР із клітин слинних залоз, які забезпечують анестезію, антикоагуляцію та захист крові від руйнування. Після цього їхні слинні залози різко спорожнюються, але вже протягом перших кількох днів запускається активний синтез секреторних білків, а за тиждень запаси майже повністю відновлюються – зокрема зростає рівень мРНК гірудину, що свідчить про індукцію транскрипції. Така швидка регенерація слинних білків є адаптивною стратегією, оскільки МП рідко знаходять господаря й повинні бути готові до повного живлення, хоча можливе й часткове зменшення секреції у щойно нагодованих особин із залишками крові в травному тракті.

У МП *Hirudo verbana* передня присоска містить рот із рухомим потрійним щелепним апаратом, покритим зубами, тоді як задня присоска не має отвору. Щелепи трикутної форми, м’язові, покриті кутикулою, із секреторними каналами між зубами, що забезпечують тривалу кровотечу під час харчування.

Виявлення структури щелеп і зубів має важливе значення для розуміння механізму дії МП, а відмінності в їх будові можуть слугувати критерієм для класифікації різних видів [13].

МП використовуються в клінічні та традиційній китайській медицині завдяки їхнім антитромбіновим властивостям, що зумовлено активними білковими та пептидними компонентами, такими як гірудин, гепарин, гістамін, а також інгібіторами протеаз (декорсин, гементин), які регулюють систему згортання крові. Гірудин є найпотужнішим природним інгібітором тромбіну та застосовувався як засіб запобігання коагуляції до відкриття гепарину. МП широко використовуються в рецептурах традиційної китайської медицини і в сучасних медичних практиках для протизапального лікування, терапії серцево-судинних захворювань, протипухлинного лікування та інших станів. Огляд підкреслює фармацевтичне значення МП і надає основу для подальших досліджень їхніх механізмів дії та терапевтичного потенціалу при різних захворюваннях [14].

Науковий досвід Німеччини [15], показав, що 85,4% німецьких ветеринарів у практиці дрібних тварин використовують натуропатію та комплементарну медицину, найчастіше комплексну гомеопатію, фітотерапію, класичну гомеопатію та біофізичні методи, переважно для ортопедичних геріатричних та метаболічних захворювань. Попит на такі методи зростає, адже їхніми перевагами є менша кількість побічних ефектів. Дане дослідженняпідкреслює потребу у подальших даних щодо механізмів дії та ефективності, офіційних стандартів та кваліфікацій щодо застосування гірудотерапії в медичній практиці.

Терапевтична дія п’явки є комплексною, системною і зумовлена сумарним ефектом усіх компонентів її слини. Основні напрямки її біологічної активності включають [9, 10, 11, 16]:

1) антикоагулянтний ефект – запобігання тромбоутворенню завдяки гірудину, апіразі та дестабілазі. Це сприяє поліпшенню мікроциркуляції,

усуненню застійних явищ у капілярному руслі, нормалізації тканинного дихання.

2) протизапальний ефект – егліни та бделіни блокують дію ферментів, що запускають запальні процеси. Це зменшує набряк, почервоніння та біль у місці впливу.

3) знеболювальний ефект – у місці укусу спостерігається зниження больової чутливості через вивільнення речовин, які пригнічують передачу больових імпульсів у нервових закінченнях.

4) антибактеріальний та імуномодулюючий ефект – деякі компоненти слини пригнічують розвиток патогенних бактерій і водночас стимулюють фагоцитарну активність клітин імунної системи.

5) вазодилятуючий ефект – біоактивні речовини сприяють розширенню судин, покращують кровопостачання тканин, що особливо важливо при ішемічних станах.

Завдяки цим властивостям гірудотерапія використовується у кардіології, неврології, ангіології, дерматології, хірургії та косметології. Вона ефективна при артеріальній гіпертензії, тромбофлебіті, запальних процесах та післяопераційних ускладненнях [12].

У численних експериментальних дослідженнях із використанням лабораторних щурів було встановлено, що БАР МП справляють позитивний вплив на різні органи та системи організму [13]. У дослідах на білих щурах із моделлю гострого запалення спостерігалося зниження набряку тканин і зменшення інфільтрації лейкоцитів після введення екстрактів із слинних залоз п’явок. Це підтверджує протизапальний потенціал еглінів і бделінів [13, 14]. При експериментах на тваринах з індукованим тромбозом встановлено, що введення гірудину або дестабілази призводило до значного подовження часу згортання крові та зменшення утворення тромбів у судинах. Крім того, спостерігалося покращення мікроциркуляції та зниження агрегації тромбоцитів [15]. У моделях ішемії головного мозку у щурів введення препаратів на основі слини п’явок зменшувало ступінь пошкодження нейронів і покращувало

функціональний стан нервової тканини. Це пояснюється здатністю біоактивних речовин п’явки покращувати мозковий кровообіг, знижувати оксидативний стрес і запобігати гіпоксії [17]. У дослідах на щурах із моделлю експериментальної гіпертензії виявлено, що регулярне введення гірудину сприяє зниженню артеріального тиску, покращує функціональний стан судинного ендотелію і зменшує ризик судинних спазмів [10].

В експериментах, де тваринам вводили гіалуронідазу п’явки, спостерігалося прискорення загоєння ран і зменшення рубцювання тканин, що вказує на потенціал використання цих речовин у регенеративній медицині [17]. Також у дослідах із моделлю хронічного болю у щурів застосування екстракту п’явки призводило до значного зменшення больових реакцій, що свідчить про наявність анальгетичного ефекту, подібного до дії нестероїдних протизапальних засобів, але з меншою токсичністю [18].

Біоактивні білки зі слини навіть однієї МП досягають у плазмі людини концентрацій, достатніх для реального впливу на локальні й системні процеси, що підтверджує фармакологічну, а не лише психологічну основу терапевтичних ефектів гірудотерапії [20].

Дослідження собак і котів, яким проводили медичну гірудотерапію [21], показало, що вона може бути безпечним та ефективним методом лікування венозного застою й некрозу шкірних клаптів: у 75% пацієнтів відзначено суттєве покращення стану тканин, тоді як у 17% ефекту не спостерігалося, а один пацієнт був евтаназований через супутню патологію. Результати підкреслюють потенційну користь гірудотерапії у випадках, коли традиційні методи лікування не дають результату, та вказують на потребу у стандартизації й подальших дослідженнях для ветеринарної практики.

Систематичний огляд [22] клінічних досліджень показав, що гірудотерапія є ефективним традиційним методом для профілактики та лікування різних станів, включно з гормональними й метаболічними порушеннями, серцево-судинними розладами та запальними захворюваннями;

попри можливі ускладнення, за належних профілактичних заходів вона залишається доступним і відносно безпечним лікувальним підходом.

Ще одне дослідження клінічних результатів [23] гірудотерапії, яку проводили в центрі «Herba» (2020–2024 рр.) на 181 пацієнті, показало загальну ефективність 82,68%, із максимальним успіхом при остеоартриті, ліпомах, хворобі Рейно та склеродермії, а також високими результатами при тиреоїдиті, кісті Бейкера, захворюваннях вуха та діабетичних виразках стопи; водночас найнижча ефективність спостерігалася при варикозній хворобі. Гірудотерапія добре полегшувала біль і покращувала симптоми, але мала обмеження щодо корекції структурних деформацій чи втрати тканин. Загалом результати свідчать про перспективність розширення показань до гірудотерапії, хоча для глибшого розуміння її механізмів потрібні подальші дослідження.

У науковому дослідженні [24] зарубіжного досвіду описувався випадок 50-річного пацієнта із критичною ішемією кінцівки, який відмовився від рекомендованої ампутації та самостійно застосував гірудотерапію, що, попри відсутність медичних рекомендацій, призвело до зменшення болю та покращення симптомів (рисунок 1.3). Автори наголошували на тому, що сучасні дані про ефективність гірудотерапії ґрунтуються переважно на поодиноких клінічних випадках, а її потенціал потребує підтвердження у рандомізованих контрольованих дослідженнях та систематичних оглядах.

Ще один унікальний випадок [9] описує 10-місячну самку мастифа з гострим респіраторним дистресом через під’язикову гематому та набряк м’яких тканин шиї, що спричиняли зміщення трахеї та ускладнили інтубацію. Після стабілізації стану за допомогою седативних інфузій та підтримки дихання, для контролю набряку і крововиливу були застосовані МП (*H.verbana)*, що сприяли повільній кровотечі та успішній екстубації собаки через 44 години, після чого її виписали. Це перше повідомлення про використання МП у ветеринарії для лікування під’язикової гематоми у собак, демонструючи потенціал гірудотерапії як додаткового методу при таких ускладненнях.



А Б



В

Рисунок 1.3 – Стопа пацієнта з критичною ішемією кінцівки (А), процес гірудотерапії (Б), стопа пацієнта після шести місяців гірудотерапії (В) [24]

Ферменти МП полегшують доступ до тканин і судин, їхні секрети викликають вазодилатацію, пригнічують згортання крові, запалення та функції тромбоцитів, забезпечуючи також антимікробний і знеболювальний ефекти. Гірудотерапію застосовують переважно при суглобових хворобах, венозних патологіях і в реконструктивній хірургії, а також у низці рідкісних клінічних випадків, хоча оптимальна тривалість і кількість МП залишаються невизначеними та залежать від клінічної оцінки. Метод має протипоказання (зокрема, геморагічні стани, антикоагулянтна терапія, імунодефіцитні та

онкологічні стани) і пов’язаний із потенційними ускладненнями – від алергічних реакцій та інфекцій до кровотечі, ортостатичної гіпотензії й рубцювання, що потребує профілактики, моніторингу та суворої заборони повторного використання МП. Попри ризики, гірудотерапія може бути корисним допоміжним інструментом у комплексному лікуванні, за умови обґрунтованого показання і лікарського конролю [25, 26].

Загалом, результати експериментальних досліджень підтверджують, що БАР МП мають виражений багатофакторний терапевтичний потенціал і можуть бути основою для створення нових лікарський препаратів природного походження.

Отже, медична п’явка є унікальним природним біологічним об’єктом, який виробляє широкий спектр БАР із високою фармакологічною активністю. Її слина містить антикоагулянти, протизапальні, анальгетичні, фібринолітичні, імуномодулюючі та вазоактивні речовини, які комплексно впливають на організм людини і тварин. Дані експериментів на лабораторних щурах свідчать про позитивний вплив препаратів на основі п’явок на показники гемостазу, мікроциркуляцію, регенерацію тканин, зменшення запалення та больового синдрому. Це підтверджує доцільність подальших досліджень біоактивних компонентів МП для розробки нових ефективних та безпечних засобів лікування широкого спектра патологічних станів.

1.2 Моделі дослідження впливу біологічно активних речовин медичної п’явки на лабораторних щурах

Лабораторні щури є одним із найпоширеніших видів тварин, які застосовують у біомедичних дослідженнях, зокрема у вивченні впливу БАР природного походження. Використання щурів як експериментальної моделі

обґрунтовується низкою переваг, що роблять їх універсальними об’єктами у токсикологічних, фармакологічних та імунологічних експериментах [27].

По-перше, фізіологічні та біохімічні процеси у щурів у багатьох аспектах подібні до таких у людини. Це стосується функціонування серцево-судинної, ендокринної, нервової та імунної систем. Щури мають схожу організацію кровотворення, а структура клітинних елементів крові та їх співвідношення наближені до людських показників. По-друге, короткий життєвий цикл і висока плодючість забезпечують можливість отримання достатньої кількості тварин для репрезентативної вибірки. Це дозволяє проводити серії експериментів з мінімальними відмінностями між особинами. Крім того, у наукових центрах світу створені стандартні лінії щурів із відомими генетичними характеристиками, що спрощує порівняння результатів між різними дослідженнями [28]. Ще однією перевагою є добре розроблені методичні підходи до роботи зі щурами, включаючи техніки забору крові, визначення біохімічних параметрів, гематологічних показників, а також спостереження за поведінковими реакціями. Усе це дає можливість комплексно оцінювати дію БАР на живий організм [21, 22].

Як згадувалося раніше, МП (*Hirudo medicinalis, H. verbana* та *H.orientalis*) є джерелом понад сотні БАР, серед яких найбільш вивченими є гірудин, бделіни, егліни, дестабілаза, гіалуронідаза, апіраза, колагеназа, органічні кислоти, а також низка пептидів із протизапальними, антикоагулянтними, антимікробними та імуномоделюючими властивостями [29]. Більшість з цих речовин проявляють комплексну дію – вони здатні не лише регулювати процеси згортання крові, але й впливати на клітинні та гуморальні ланки імунної системи. Дослідження [23, 24] показали, що окремі компоненти секрету п’явки можуть стимулювати фагоцитарну активність макрофагів, модулювати рівень цитокінів, а також впливати на стан антиоксидантної системи організму.

Саме тому, використання лабораторних щурів як моделі оцінки дії БАР МП є доцільним і науково обґрунтованим. Вони дозволяють дослідити як

гострі, так і хронічні ефекти впливу цих речовин на імунну, кровотворну та метаболічну системи.

Експериментальні дослідження впливу БАР МП частіше всього проводять на здорових або умовно патологічних моделях щурів. У першому випадку оцінюють загальний фізіологічний ефект – зміни морфологічних і біохімічних показників крові, маси тіла, поведінкових реакцій. У другому – застосовують моделі імунодефіциту, запалення, тромбозу чи метаболічних порушень, щоб з'ясувати потенційні терапевтичні властивості БАР [30]. При створенні моделі дослідження важливе значення має спосіб введення БАР: це може бути ін'єкційне введення очищеного секрету п'явки, нанесення мазей або екстрактів на шкіру, чи пероральне введення препаратів, створених на основі п'явкових компонентів. Тривалість експерименту варіює від кількох днів до кількох тижнів залежно від мети дослідження [25, 31]. Контрольні групи тварин отримують фізіологічний розчин або базовий носій препарату, що дозволяє чітко оцінити відмінності, спричинені саме дією активних речовин [26].

Одним із ключових напрямів у дослідженні впливу БАР є аналіз змін показників крові. Кров є чутливим індикатором функціонального стану організму, а її склад швидко реагує на зовнішні впливи, у тому числі фармакологічні та біохімічні. Основні гематологічні параметри [32], які використовують для оцінки дії БАР МП на лабораторних щурів представлено на рисунку 1.4.



Рисунок 1.4 – Основні гематологічні параметри для оцінки дії БАР МП на лабораторних щурів [27]

Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит визначають для оцінки кисневотранспортної функції крові. Загальна кількість лейкоцитів та лейкоцитарна формула є показниками реакції імунної системи. Кількість тромбоцитів – як індикатор впливу на систему гемостазу. Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) є неспецифічним показником запальних процесів. Зміни цих параметрів дозволяють судити про те, чи має речовина стимулюючий або пригнічувальний вплив на кровотворення та імунну реактивність. Наприклад, підвищення кількості лімфоцитів і моноцитів може свідчити про активацію клітинної ланки імунітету, тоді як зниження еритроцитарних показників іноді вказує на вплив речовин на еритропоез [33].

Крім морфологічного складу крові, у дослідженнях широко застосовують біохімічні показники, що відображають функціональний стан організму. До них належать рівні загального білка, альбуміну, глюкози, креатиніну, сечовини, активність печінкових ферментів, вміст малонового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів (каталази, супероксиддисмутази) [34]. З імунологічних тестів застосовують визначення вмісту імуноглобулінів класів G, M, A, рівня цитокінів (інтерлейкінів IL-2, IL-6, TNF-a), активності

комплементу, а також тестування фагоцитарної активності лейкоцитів. Ці показники дають можливість оцінити імуномодулюючий вплив БАР МП та встановити механізми їхнього впливу на клітинну і гуморальну ланки імунітету [35]. Дослідження [29, 30] демонструють, що введення екстрактів або очищених компонентів секрету п’явки часто супроводжується нормалізацією рівня цитокінів і зниження маркерів запалення, що може свідчити про протизапальний і регулюючих ефект цих речовин.

Безперечною перевагою щурів є добре вивчена фізіологія, доступність і можливість стандартизації експериментальних умов. Однак при екстраполяції результатів на людину слід враховувати міжвидові відмінності в метаболізмі, імунній реактивності та ферментних системах [36]. Крім того, дія БАР МП може відрізнятися залежно від способу введення, дози та тривалості впливу. Тому отримані результати потребують подальшого підтвердження на інших біомоделях і в клінічних умовах [20].

Широке використання лабораторних щурів обумовлене відносною дешевизною утримання, швидким циклом розмноження, вивченою фізіологією та високим ступенем репродуктивності експериментальних результатів. У практиці наукових досліджень застосовують лінійні (інбредні) та нелінійні (аутбредні) популяції, що відрізняються за генетичною однорідністю та характером фізіологічних реакцій [37].

До лінійних (інбредних) щурів належать генетично стабільні штами, отримані шляхом тривалого інбридингу. Їх використовують для: дослідження механізмів дії речовин на клітинному та молекулярному рівнях; токсикологічних аналізів; вивчення імунологічних реакцій; онкомоделей; фармакологічних і фармакодинамічних досліджень. Перевагами є мінімальна генетична варіабельність, що забезпечує високу відтворюваність результатів та однорідність контрольних груп [38].

Нелінійні щури (аутбредні) генетично різнорідні, формуються шляхом випадкового схрещування без контрольованого інбридингу. Основними сферами застосування є: тестування терапевтичних засобів і методів корекції;

моделювання метаболічних порушень; вивчення стрес-індукованих змін; дослідження поведінкових реакцій; оцінка загальної фізіологічної реактивності.Використання нелінійних щурів для оцінки ефективності терапії є більш доцільним, оскільки [37, 38]:

1) гетерогенність популяції краще імітує популяцію людини, що дозволяє отримати більш реалістичний діапазон реакцій на терапевтичний вплив;

2) вираженість індивідуальної варіабельності дає можливість оцінити не лише середній ефект, а й крайні варіанти відповіді;

3) вища стійкість до стресових факторів і інбрид-депресії, що важливо при тривалих експериментах;

4) менша чутливість до дрібних зовнішніх факторів, що знижує ризик випадкових коливань гематологічних показників.

Щодо гематологічних показників, то загальна кількість лейкоцитів і лейкоформула є важливими показниками стану імунної системи та загальної реактивності організму, тому їх використовують у токсикологічних, фармакологічних та фізіолого-біохімічних дослідженнях [39]. Нормальні значення загальної кількості лейкоцитів лінійних та нелінійних щурів різних вікових груп, представлено в таблиці 1.1 [39].

Таблиця 1.1 – Нормальні значення загальної кількості лейкоцитів [39]

Вік щурів	Норма WBC ($\times 10^9$/л) лінійних щурів	Норма WBC ($\times 10^9$/л) нелінійних щурів
Молоді (1-3 місяці)	10,0–14,0	10,0–16,0
Дорослі (4-12 місяців)	7,0–12,0	7,0.–14,0
Старі (>12 місяців)	5,0–10,0	5,0–12,0

Молоді тварини мають підвищену кількість лейкоцитів через активність імунної системи. Дорослі демонструють стабільніші показники в межах фізіологічної норми. Старі щури характеризуються зниженням загальної

кількості лейкоцитів унаслідок вікової інволюції імунної системи. Лейкоцити відіграють ключову роль у забезпеченні імунної відповіді організму та підтриманні гомеостазу, а зміни їх кількісних і якісних характеристик є інформативним індикатором фізіологічного стану тварин. У лабораторних щурів периферична кров характеризується лімфоцитарним типом гемограми, що обумовлено особливостями функціонування лімфоїдної системи.Нелінійні щури мають трохи ширший діапазон, що пов’язано з генетичною неоднорідністю. Тоді як лінійні щури показують більш стабільні та прогнозовані значення [40].

Лінійні та нелінійні популяції щурів використовуються залежно від цілей експерименту: інбредні штами – для механічних досліджень з мінімальними біологічними варіаціями, а аутбредні – для оцінки терапевтичних впливів у моделі, ближчій до природної популяції. Гематологічні показники, зокрема кількість лейкоцитів та лейкоцитарна формула, є чутливими маркерами стану організму та широко застосовуються для оцінки ефективності та безпечності експериментальних втручань [41]. Лейкоцитарна формула є важливим індикатором стану імунної системи, відображаючи співвідношення різних популяцій білих кров’яних клітин. Нормативні показники лейкоцитарної формули лабораторних щурів представлені в таблиці 1.2 [42].

Нормативні показники лейкоцитарної формули та загальної кількості лейкоцитів лабораторних щурів демонструють вікову та генетичну залежність. Молоді шури характеризуються переважанням лімфоцитів та підвищеною кількістю лейкоцитів, дорослі – стабільною формулою з балансом лімфоцитів і нейтрофілів, а старі – відносним зменшенням лімфоцитів і збільшенням нейтрофілів у зв’язку з віковим імунним старінням. Нелінійні щури мають ширший діапазон коливань показників через генетичну неоднорідність, тоді як лінійні щури відзначаються більш стабільними та прогнозованими значеннями [42, 44].

Таблиця 1.2 – Нормативні показники лейкоцитарної формулилабораторних щурів

Вікова група	Показники	Лінійні щури (%)	Нелінійні щури (%)
Молоді (1-3 міс.)	Лімфоцити	65–80	70–85
	Сегментоядерні нейтрофіли	15–25	10–20
	Паличкоядерні нейтрофіли	1–4	1–5
	Моноцити	1–4	1–6
	Еозинофіли	1–3	1–4
	Базофіли	0–1	0–1
Дорослі (4-12 міс.)	Лімфоцити	60–80	60–75
	Сегментоядерні нейтрофіли	20–30	15–30
	Паличкоядерні нейтрофіли	1–4	1–5
	Моноцити	1–6	1–8
	Еозинофіли	1–4	1–6
	Базофіли	0–1	0–1
Старі (>12 міс.)	Лімфоцити	50–65	50–65
	Сегментоядерні нейтрофіли	25–35	25–40
	Паличкоядерні нейтрофіли	1–4	1–5
	Моноцити	1–6	2–8
	Еозинофіли	1–5	1–6
	Базофіли	0–1	0–1

Отже, лабораторні щури є оптимальною моделлю для вивчення впливу БАР МП за допомогою їхньої фізіологічної подібності до людини, легкості утримання та наявності стандартизованих методик аналізу. Вивчення гематологічних, біохімічних та імунологічних показників у цих тварин дозволяє комплексно оцінити ефекти дії п’явкових компонентів на організм та його імунітет. Дослідження даного феномену становлять важливу наукову основу для подальшого створення нових фармакологічних препаратів і біологічно активних компонентів на основі секрету слинних залоз МП.

1.3 Інтегральні лейкоцитарні індекси як доступні та інформативні показникимоніторингу функціонального стану імунної системи

Важливими аналітичними показниками, що розраховуються на основі відносного вмісту різних форм лейкоцитів у периферичній крові є інтегральні лейкоцитарні індекси (далі ІЛІ). Ці індекси дозволяють отримати узагальнену імунну оцінку, рівень запальної реакції, ступень інтоксикації організму, а також співвідношення між процесами адаптації та дезадаптації організму [45]. На противагу окремим абсолютним значенням кількості лейкоцитів або лімфоцитів, інтегральні індекси враховують взаємозв’язок між різними клітинними популяціями крові. Завдяки цьому, вони є більш чутливими та інформативними для виявлення навіть незначних змін у гомеостазі, спричинених патологічними або експериментальними чинниками [31, 40].

Сьогодні ІЛІ широко використовуються в медичній практиці, клінічній біохімії, токсикології та експериментальній фізіології. Для оцінки дії БАР природного походження, зокрема екстрактів МП, вони мають особливу цінність, оскільки відображають не лише кількісні, а й функціональні зміни в імунній системі тварин [46]. Кожен із лейкоцитарних індексів відображає певний аспект імунної реактивності та гомеостатистичної рівноваги. Вони

дозволяють виявити зсув у балансі між клітинами неспецифічного (нейтрофіли, моноцити) і специфічного (лімфоцити, еозинофіли) імунітету [47]. Показники, які ІЛІ дають змогу оцінити представлено на рисунку 1.5 [8, 48].

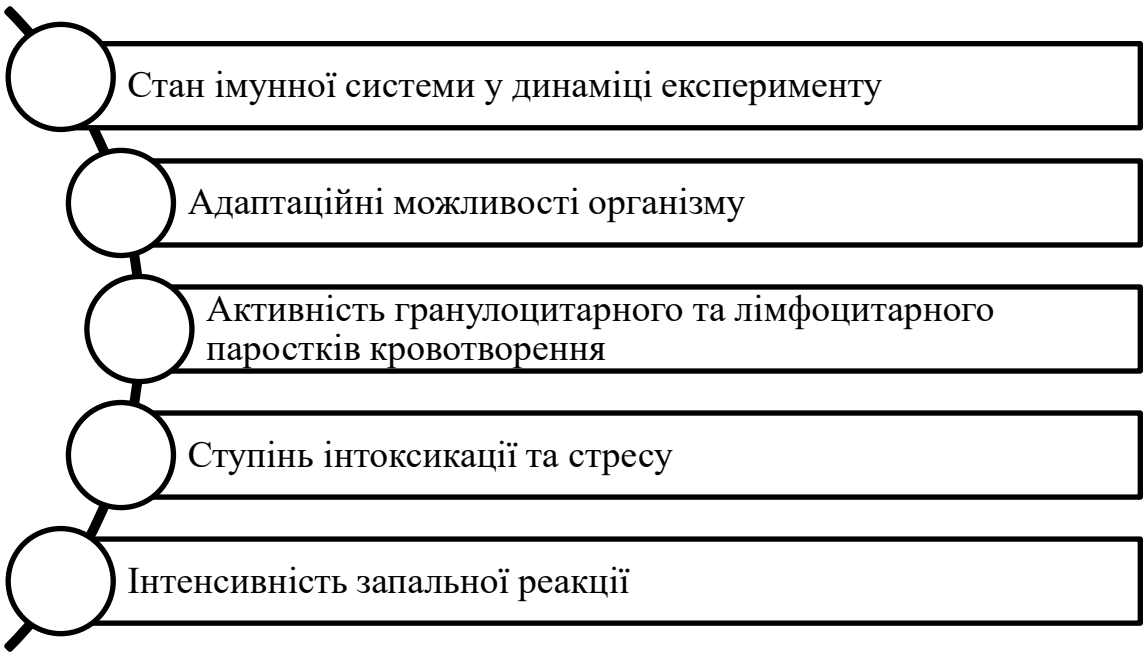


Рисунок 1.5 – Показники, які ІЛІ дають змогу оцінити [8]

У лабораторних тварин, зокрема нелінійних щурів, ці показники особливо зручні, оскільки дозволяють мінімізувати кількість інвазивних маніпуляцій та отримати комплексну інформацію про стан організму на основі звичайного гематологічного аналізу [13].

Розглянемо основні ІЛІ і їхнє діагностичне значення спираючись на значну кількість досліджень [2, 6-10, 12, 14, 33, 49].

Індекс лейкоцитарно-гранулоцитарного зсуву (ІЛГ) характеризує співвідношення зрілих і незрілих форм нейтрофілів. Його зростання говорить про активізацію ростка кісткового мозку (гранулоцитарного), що типово для гострих запальних процесів або інтенсивного стресу. Зниження ІЛГ, навпаки, може бути проявом імунодепресії чи виснаження резервів кровотворення [34, 50]. У досліді [45] на Wistar-щурах під дією бактеріального ендотоксину ІЛГ

збільшувався з 0,2 до 0,5, що відображало активацію кістково-мозкового ростка.

Індекс співвідношення еозинофілів до лімфоцитів (ІСЕЛ) характеризує взаємозв'язок між алергічною реактивністю (еозинофіли) та станом специфічного імунітету (лімфоцити). Підвищення показника ІСЕЛ може свідчити про активацію алергічних реакцій або гельмінтоз, тоді як його зниження – про пригнічення еозинофільної ланки імунітету або підвищену активність лімфоцитарної відповіді [51]. У деяких дослідженнях [46, 47] підвищення ІСЕЛ спостерігалося при експериментах із моделлю гельмінтозу у щурів, тоді як його зниження свідчило про пригнічення еозинофільної ланки.

Серед ІЛІ індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ), відображає стан алергічної готовності та співвідношення між клітинами гуморальної ланки імунітету. Підвищення ІСЛЕ характерне для пригнічення еозинофільної відповіді на тлі стресу чи інтоксикації, тоді як його зниження може вказувати на алергічну або паразитарну сенсибілізацію [52].

Для оцінки співвідношення між клітинними ланками адаптивного та вродженого імунітету використовується індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ) [53]. Підвищення ІСЛМ може свідчити про активацію лімфоцитарної відповіді, тоді як зниження свідчить про перевагу активних механізмів (фагоцитарних) та зростання ролі неспецифічного захисту.У щурів під впливом імуномодулятора ІСЛМ зростав з 2,1 до 3,4, що вказувало на активацію лімфоцитарної відповіді [48].

Маркером балансу між специфічною (лімфоцитарною) та неспецифічною (нейтрофільною) ланками імунітету є індекс співвідношення лімфоцитів до нейтрофілів (ІСЛН). Підвищення ІСЛН може відображати вірусну інфекцію або імунну активацію, а його зниження – розвиток бактеріального запалення чи стресової реакції [54].У деяких дослідженнях [49, 50] на лабораторних щурах, підвищення ІСНЛ (з 1,2 до 2,5) спостерігалося при бактеріальних інфекціях, зниження – при вірусних ураженнях.

Співвідношення основних зрілих клітин імунного захисту характеризує індекс співвідношення лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів (ІСЛНс). Даний індекс є чутливим показником запальних процесів, оскільки зміщення у бік нейтрофілів свідчить про інтенсивну нейтрофільну реакцію, а збільшення лімфоцитарної частки – про відносну стабілізацію або вірусний компонент у патогенезі [55].

Одним із найчастіше використовуваних індексів, який є маркером системного запалення та стресу є індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів (ІСНЛ). Підвищення ІСНЛ спостерігається при бактеріальних інфекціях, інтоксикаціях, травмах, хронічному стресі; зниження – при вірусних ураженнях та імунній активації [56].

Баланс між гострою (нейтрофільною) та хронічною (моноцитарною) фазами запальної відповіді відображає індекс співвідношення нейтрофілів до моноцитів (ІСНМ). Його підвищення характерне для гострого запалення, тоді як зниження – для затяжних або хронічних процесів [57].

Індекс співвідношення паличкоядерних нейтрофілів до лімфоцитів (ІСНпЛ) є показником відповіді на запалення ступеня активації кістково-мозкового кровотворення. Зростання ІСНпЛ свідчить про стимуляцію нейтрофільного ряду та вихід молодих форм у периферичну кров [50, 58].

Індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до лімфоцитів (ІСНсЛ) відображає співвідношення зрілих нейтрофілів до клітин специфічного імунітету. Його підвищення є типовим для гострих бактеріальних інфекцій, інтоксикацій, запальних процесів, тоді як зниження – для станів з домінуванням лімфоцитарної реакції (наприклад, при вірусних інфекціях) [49, 53].

Індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до моноцитів (ІСНсМ) служить показником співвідношення між основною популяцією фагоцитів у крові. Збільшення ІСНсМ характерне для гострої фази запалення, а зниження – для тривалих або відновних процесів, коли посилюється роль моноцитів [47, 56].

Індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до паличкоядерних нейтрофілів (ІСНсНп) є індикатором зрілості нейтрофільного пулу. Підвищення ІСНсНп свідчить про перевагу нейтрофілів, а саме зрілих форм та стабілізацію запальної відповіді, тоді як зниження свідчить проактивацію гранулоцитарного ростка та посилення запальної реакції (зсув лейкоформули вліво) [58].

Одним із найінформативніших показників, що відображає ступінь ендогенної інтоксикації організму є лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ). Зростання ЛІІ супроводжується переважанням нейтрофільного типу реакції, збільшенням кількості паличкоядерних форм і зниженням лімфоцитів. Це говорить про присутність деструктивних, запальних або токсичних процесів. Зниження ЛІІ відображає стабілізацію або нормалізацію стану організму [7, 35]. У досліді [51] на лабораторних щурах під дією токсичної дози ацетамінофену ЛІІ збільшувався майже в 2 рази.

Індекс імунної реактивності (ІМІ) характеризує загальну активність імунної системи та здатність організму реагувати на зовнішні впливи. Підвищення ІМІ є показником адекватної компенсаторної реакції, а його зниження – проявом імунного виснаження, що може спостерігатися при хронічному стресі або тривалому запальному процесі [10, 54]. Експериментальні дослідження ІМІ [10, 52] при стимуляції імуномодуляторами підтвердили підвищення даного лейкоцитарного індексу, тоді як зниження констатувалося при хронічному стресі або тривалому запальному процесі у лабораторних щурів.

Лейкоцитарно-інтегральний індекс стресу (ЛІС) є маркером фізіологічної напруги та стресової реакції організму. Підвищення ЛІС вказує на мобілізацію гранулоцитів і зниження лімфоцитарного пулу. У дослідах із гірудовпливом аналіз цього індексу дозволяє виявити адаптаційні механізми, які формуються під час відповіді організму на стимуляцію (біологічну) п’явковими факторами [12, 53]. Дослідження [12, 53] показують, що у щурів після гірудовпливу ЛІС зростав на 15-20%, що свідчило про активацію адаптаційних механізмів.

Індекс регенерації (ІР) [8, 36, 50] відображає інтенсивність оновлення клітин кровотворної системи. Його підвищення вказує на запуск кістково-мозкової регенерації, а зниження – про гальмування проліферативних процесів. У комплексі з іншими індексами ІР допомагає оцінити компенсаторні можливості організму. Деякі дослідження [54, 57] зазначали, що підвищення ІР відзначалося при відновленні після гострої крововтрати, а зниження – при пригніченні кісткового мозку.

Різноманіття інтегральних лейкоцитарних індексів забезпечує можливість детального аналізу співвідношень між основними типами лейкоцитів і дозволяє оцінити характер, напрям та інтенсивність імунозапальних процесів. Використання цих індексів у комплексі є інформативним критерієм стану неспецифічної резистентності організму, а також адаптаційних і компенсаторних реакцій на дію різних факторів, зокрема біологічних стимуляторів, таких як гірудотерапія [2, 37, 51]. Наприклад, у дослідах [12, 14, 39] з гірудовпливом на нелінійних щурах порівняння ІЛІ контрольної та дослідної груп дозволяло виявити як протизапальну дію, так і активацію адаптаційно-регуляторних механізмів.

Перевагою інтегральних показників інтегральних індексів є можливість комплексного аналізу стану організму без додаткових дорогих методів. Вони дозволяють оцінити: напрямок розвитку патологічного процесу (запалення, інтоксикація, імунна реакція); фазу перебігу (гостра, підгостра, відновна); ефективність терапевтичних або експериментальних впливів [9, 50, 54].

У експериментальних дослідженнях на щурах ІЛІ особливо цінні для вивчення системних ефектів біологічних процедур, таких як гірудовплив, який спричиняє зміни у мікроциркуляції, імунній відповіді, рівнях цитокінів і гематологічних показниках. Відображаючи баланс між лейкоцитарними популяціями, інтегральні індекси можуть бути чутливими маркерами адаптаційно-компенсаторних процесів, що відбуваються під час дії БАР МП [14, 38, 50].

Щодо можливостей для інтерпретації результатів, то аналіз динаміки ІЛІ у тварин дослідних груп дозволяє: визначити зниження показників інтоксикації (ЛІІ); зафіксувати нормалізацію імунного балансу (ІСЛН, ІСНЛ); виявити початкову фазу активації імунітету (підвищення ІМІ, ІЛГ, ІР); простежити розвиток запальної або стресової реакції (зростання ЛІІ, ЛІС, зміни ІСЛЕ); оцінити ефективність адаптаційних механізмів у період нормалізації (зниження ЛІІ, стабілізація ІСЛМ). Таким чином, порівняльний аналіз цих показників у контрольній та експериментальній групах щурів при гірудовпливі дає змогу не лише виявити напрямок і характер фізіологічних змін, але й інтерпретувати їх у контексті загальної імунної реактивності організму [12, 14, 39].

Отже, ІЛІ вважаються доступним інформативним і об’єктивним інструментом оцінки системних змін у крові. Їх застосування дозволяє здійснювати кількісний аналіз складних фізіологічних реакцій організму без залучення складних методів біохімічної або імунологічної діагностики. Використання ІЛІ дає змогу інтерпретувати ефекти гірудовпливу як з позицій протизапальної дії, так і з погляду активації адаптаційно-регуляторних механізмів, що підтверджує доцільність їх застосування в експериментальній біології.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об’єкт дослідження

Досліджено лейкоцитарні показники крові 9 інтактних нелінійних лабораторних щурів (контроль) та 9 нелінійних лабораторних щурів після гірудовпливу (дослід). Вибірка була віком від 18 до 24 місяців, середня вага – 250-350 г.

Для дослідів використовували голодних медичних п’явок (далі МП) виду *Hirudo verbana* (вік понад 8 місяців, термін голодування не менше 4 місяців), вирощених на базі навчально-науково-дослідної лабораторії клітинної та організменої біотехнології Запорізького національного університету.

Підготовка дослідних щурів передбачала їх короткочасне фіксування (4 хвилини), щоб забезпечити спокій. Після чого місце впливу (ділянка шиї) оголялося від шерсті та промивалося дистильованою водою без запаху. Під час підготовки щурів враховувалася заборона використання спирту або йодовмісних антисептиків, оскільки п’явки не присмоктуються до шкіри з такими запахами.

Гірудовплив здійснювали шляхом приставки 1 МП на тварину тричі з інтервалом 2 доби, імітуючи курс гірудотерапії. Маніпуляцію приставки МП проводили швидко. Для певності результату в шприц вносили 2 МП, після присмоктування однієї з них, іншу знімали, таким чином повний акт годування проходила 1 МП (25-30 хв.). По завершенню сеансу приставки, ранку на тварині присипали стерильною крейдою. Кожен із дослідних щурів після приставки МП перебував в індивідуальній клітці до повного загоєння ранки. Дослідження здійснювали в один і той же час доби. Всі маніпуляції проводили з дотриманням регламентованих норм і правил поводження з лабораторними тваринами. Тварин виводили з експерименту методом декапітації [57, 58]. Кров лабораторних щурів стабілізували антикоагулянтом та одразу аналізували.

Ефект гірудовпливу у нелінійних щурів оцінювали через 2 тижні після останньої приставки МП. Визначали кількість лейкоцитів, лейкоцитарну формулу крові у мазку, лейкоцитарні індекси (ІЛГ, ІСЕЛ, ІСЛЕ, ІСЛМ, ІСЛНс, ІСНЛ, ІСНМ, ІСНпЛ, ІСНсМ, ІСНсНп).

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Підрахунок кількості лейкоцитів нелінійних лабораторних щурів у камері Горяєва

Одним із найважливіших етапів гематологічного дослідження є загальної кількості лейкоцитів, оскільки цей показник відображає стан системи кровотворення та імунної реактивності організму. Для дослідження використовували методику підрахунку лейкоцитів у камері Горяєва методом П’ятницького, який є класичним і високоточним способом визначення кількості білих клітин крові у лабораторній практиці [58].

Метод П’ятницького ґрунтується на розведенні крові спеціальним реактивом (розчином оцтової кислоти), який забезпечує гемоліз еритроцитів без ушкоджень лейкоцитів, що дозволяє їх чітко візуалізувати під час підрахунку в камері Горяєва. Ключовим принципом методу є підрахунок лейкоцитів у певному об’ємі розведеної крові з подальшим перерахунком їхньої кількості на 1 літр (або 1 мкл) крові [59].

Хід проведення [58, 59]:

1. В капіляр піпетки набирали 20 мкл крові та 380 мкл 3% розчину оцтової кислоти (розчин П’ятницького).

2. Отриману суміш ретельно перемішували, після чого готували зразок для підрахунку у камері Горяєва.

3. Після осідання клітин (протягом 2-3 хвилин) підрахунок лейкоцитів проводили під малим збільшенням мікроскопа (×200-400), беручи до уваги великі квадрати сітки (100 квадратів).

4. Розрахунок здійснювали за формулою [58]:

$$X = a \times 250 \times 20 / 100, \text{ тобто } X = a \times 50, \quad (2.1)$$

де X – число лейкоцитів у 1 мкл крові;

a – число лейкоцитів у 100 великих квадратах.

Обробка результатів передбачала порівняння отриманих результатів з нормативними показниками для лабораторних тварин відповідного виду та віку. Для нелінійних білих лабораторних щурів фізіологічна кількість лейкоцитів у периферичній крові коливається в межах (6,0-10,0) × 10^9/л.

Підвищена кількість лейкоцитів (лейкоцитоз) говорить про запуск імунної активізації у відповідь на дію запальних, інфекційних або стресових факторів. Зниження (лейкопенія) може бути наслідком пригнічення кровотворення, токсичного впливу або виснаження імунної системи [35, 58].

Перевагами методу П’ятницького є: висока точність підрахунку завдяки рівномірному розподілу клітин у полі зору; простота виконання та доступність реактивів; можливість поєднання з підрахунком еритроцитів і тромбоцитів у тих самих зразках; збереження морфології лейкоцитів, що дозволяє оцінювати їхній стан та форму [58].

Загальна кількість лейкоцитів за методом П’ятницького є базовим показником у гематологічному аналізі, на основі якого оцінюють загальний імунологічний статус організму. У поєднання з аналізом лейкоцитарної формули та інтегральних лейкоцитарних індексів цей показник дозволяє комплексно оцінити вплив різних чинників (у нашому випадку – гірудовпливу) на кровотворну та імунну системи експериментальних тварин.

2.2.2 Виготовлення та фарбування мазка крові нелінійних лабораторних щурів

З метою морфологічного аналізу та підрахунку клітин готували тонкі мазки крові на чистих, знежирених скельцях. Мазки сушили при кімнатній температурі та фіксували у етанолі протягом 10 хвилин.

Після висушування мазки фарбували за методом Романовського-Гімзи [58], що забезпечує чітку диференціацію цитоплазми та ядер клітин білої крові. Фарбування здійснювали 15% розчином барвника за Романовським-Гімза упродовж 20-30 хвилин, після чого препарати промивали дистильованою водою, висушували та досліджували під мікроскопом із застосуванням імерсійного масла.

2.2.3 Визначення лейкоцитарної формули крові нелінійних лабораторних щурів

Після фарбування, під мікроскопом визначали морфологічні типи лейкоцитів – нейтрофіли (паличкоядерні та сегментоядерні), еозинофіли, базофіли, лімфоцити, моноцити. Для встановлення лейкоцитарної формули підраховували 200 (не менше 100, якщо мала кількість клітин) лейкоцитів у кожному мазку, визначаючи відносну кількість кожного виду у відсотках.

Процедура дослідження передбачала роботу з мікроскопом. На початковому етапі підрахунку мазка крові, за допомогою об’єктива знаходили край мазка. На мазок крові наносили краплю імерсійного масла, після чого, без зміни положення скла, переміщували об’єктив (імерсійний) так аби він поринув у краплю. Мікрогвинтом регулювали фокусну відстань для отримання чіткого та деталізованого зображення клітин. Під час аналізу лейкоцитарної формули

особливу увагу приділяли розпізнаванню непошкоджених лейкоцитів. З метою забезпечення максимальної точності результатів підрахунок лейкоцитів здійснювали в різних зонах аби уникнути підрахунку тих самих клітин.

Абсолютну кількість лейкоцитів кожного типу обчислювали за формулою [58]:

$$A = (L \times P) / 100, \qquad (2.2)$$

де: А – абсолютна кількість певного типу лейкоцитів (у 1 мкл крові);

L – загальна кількість лейкоцитів, підрахована у камері Горяєва;

Р – відсотковий вміст даного типу клітин у лейкоцитарній формулі.

Отримані результати використовували для подальшого розрахунку лейкоцитарних індексів, що відображають стан імунореактивності організму та дозволяють оцінити зміни у співвідношенні клітин крові при гірудопливі.

2.2.4 Дослідження лейкоцитарних індексів периферичної крові нелінійних лабораторних щурів

Для комплексної оцінки імунного статусу та функціонального стану організму нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі проводили розрахунок ряду лейкоцитарних індексів, які відображають співвідношення основних клітинних елементів периферичної крові. Лейкоцитарні індекси є інтегральними показниками реактивності організму, що характеризують взаємозв’язок між гранулоцитарною та лімфацитарною ланками імунної системи.

У даному дослідженні визначали такі індекси:

1. ІЛГ (індекс лімфоцитарно-гранулоцитарний). Розрахунок здійснювали за формулою[60]:

$$\text{ІЛГ} = \frac{Л}{Нп+Нс+Ео+Б}, \quad (2.3)$$

де Л – лімфоцити,

Нп – паличкоядерні нейтрофіли,

Нс – сегментоядерні нейтрофіли,

Ео – еозинофіли,

Б – базофіли.

Під час дослідження ІЛГ характеризував співвідношення між лімфоцитами та гранулоцитами (переважно нейтрофілами), що є показником балансу клітин гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету.

2. ІСЕЛ (індекс співвідношення еозинофілів до лімфоцитів). Розраховували за формулою [60, 61]:

$$\text{ІСЕЛ} = \frac{Ео}{Л}, \quad (2.4)$$

де Ео – еозинофіли,

Л – лімфоцити.

ІСЕЛ використовувався для оцінки алергічних, токсико-інфекційних і стресових реакцій організму.

3. ІСЛЕ (індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів). Розрахунок здійснювали за формулою [61]:

$$\text{ІСЛЕ} = \frac{Л}{Ео}, \quad (2.5)$$

де Л – лімфоцити,

Ео – еозинофіли.

ІСЛЕ використовували аби мати змогу визначити адаптаційні можливості організму та функціональну активність імунної системи.

4. ІСЛМ (індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів). Розрахунок проводили за формулою [62]:

$$\text{ІСЛМ} = \frac{\text{Л}}{\text{М}}, \tag{2.6}$$

де Л – лімфоцити,

М – моноцити.

ІСЛМ використовували для оцінки стану клітинної ланки імунітету та фагоцитарної активності.

5. ІСЛНс (індекс співвідношення лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів). Розраховували за формулою [60, 62]:

$$\text{ІСЛНс} = \frac{\text{Л}}{\text{Нс}}, \tag{2.7}$$

де Л – це лімфоцити,

Нс – сегментоядерні нейтрофіли.

Відображав баланс між специфічними і неспецифічними механізмами захисту організму.

6. ІСНЛ (індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів). Розрахунок здійснювали за формулою [62]:

$$\text{ІСНЛ} = \frac{\text{Н}}{\text{Л}}, \tag{2.8}$$

де Л – лімфоцити,

Н – загальна кількість нейтрофілів (паличкоядерних та сегментоядерних).

Даний індекс використовували як показник вираженої загальної реакції та рівня стресового навантаження.

7. ІСНМ (індекс співвідношення нейтрофілів до моноцитів). Розрахунок проводили за формулою [60]:

$$ІСНМ = \frac{Н}{М}, \quad (2.9)$$

де Н – загальна кількість нейтрофілів,

М – загальна кількість моноцитів.

ІСНМ застосовувався для відображення участі моноцитів у реалізації фагоцитарної відповіді.

8. ІСНпЛ (індекс співвідношення паличкоядерних нейтрофілів до лімфоцитів). Розраховували за формулою [62]:

$$ІСНпЛ = \frac{Нп}{Л}, \quad (2.10)$$

де Нп – загальна кількість паличкоядерних нейтрофілів,

Л – загальна кількість лімфоцитів.

ІСНпЛ використовували для визначення активації гранулоцитарної системи у відповідь на запальні або стресові чинники.

9. ІСНсМ (індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до моноцитів). Розрахунок здійснювали за формулою [61]:

$$ІСНсМ = \frac{Нс}{М}, \quad (2.11)$$

де Нс – загальні кількість сегментоядерних нейтрофілів,

М – моноцити.

ІСНсМ використовували для характеристики стадії перебігу запального процесу та активності фагоцитозу.

10. ІСНсНп (індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів до паличкоядерних нейтрофілів). Формула для розрахунку [60, 62]:

$$\text{ІСНсНп} = \frac{\text{Нс}}{\text{Нп}}\ , \qquad (2.12)$$

де Нс – загальна кількість сегментоядерних нейтрофілів,

Нп – загальна кількість паличкоядерних нейтрофілів.

ІСНсНп використовували як індикатор інтенсивності регенерації клітин нейтрофільного ряду.

Розрахунок усіх зазначених індексів здійснювали на основі показників лейкоцитарної формули, отриманих під час мікроскопічного аналізу мазків крові.

2.2.5 Статистичні методи дослідження

Статистичну обробку результатів проводили із застосуванням загальноприйнятих методів варіаційної статистики, що дозволяло оцінити достовірність змін лейкоцитарних індексів між експериментальною та контрольною групами тварин.

Для попереднього упорядкування та групування отриманих результатів використовували програму Microsoft «Excel», що допомогло систематизувати експериментальні дані. Подальша статистична обробка передбачала використання програми IBSM SPSS 20.0 (USA), яка забезпечувала високий рівень точності.

Достовірність та варіабельність результатів оцінювали, використовуючи методи описової статистики та перевірки гіпотез. Кожна досліджувана група обчислювалася за основними статистичними характеристиками до яких входять: середнє арифметичне, середньоквадратичне відхилення, похибка середньої арифметичної, t-критерій Ст'юдента та рівень значущості.

Середнє арифметичне є основним показником центральної тенденції, який характеризує «типове» або «усереднене» значення показника у вибірці. Воно визначається за формулою [63]:

$$X_{ср} = \frac{\sum Xn}{n}, \quad (2.13)$$

де $x_{ср}$ – середнє арифметичне;

$\sum X_n$ – сума всіх варіантів множини;

n – кількість варіантів.

Середнє арифметичне показує, яким у середньому є рівень певного показника у групі дослідних тварин, та дозволяє порівнювати його з аналітичним показником у контрольній групі. Це забезпечує можливість оцінити вплив досліджуваного чинника (препарату, токсину, стресора) [64].

Середньоквадратичне відхилення, характеризує ступінь варіабельності (мінливості) результатів у вибірці, тобто показує, наскільки окремі значення відрізняються від середнього [65].

Середньоквадратичне розраховується за формулою [64]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \overline{x})^2}{n-1}}, \quad (2.14)$$

де $\overline{x}$ - середнє арифметичне;

x_i - значення *i*-варіанти; *n* – загальне число варіант, або обсяг даної сукупності.

Коли значення середньоквадратичного відхилення невелике, то результати спостережень близькі між собою, і вибірка вважається однорідною. Якщо середньоквадратичне відхилення свідчить про високу варіабельність, що може бути наслідком значних біологічних відмінностей або похибок експерименту. У біологічних дослідженнях ця величина відображає ступінь індивідуальної реакції організму на дію певного фактору [65].

Похибка середньої відображає точність, із якою середньоарифметичне представляє генеральну сукупність. Іншими словами, вона показує наскільки сильно може коливатися середнє значення, якби експеримент повторювали багаторазово. Формула для розрахунку має такий вигляд [66]:

$$m = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}, \tag{2.15}$$

де m – помилка середньої величини;

σ – середнє квадратичне відхилення;

n – загальне число варіант або обсяг даної сукупності.

Таким чином, чим більша вибірка, тим менша похибка середньої, тобто тим точніше визначене середнє значення.

Аби оцінити достовірність різниці між показниками контрольної та експериментальної груп нелінійних лабораторних щурів, використовували t-критерій Ст'юдента. Оскільки, це один із найпоширеніших критеріїв у біометричних дослідженнях. Формула для незалежних вибірок [67]:

$$td = \frac{d}{md} \tag{2.16}$$

У спеціалізованих довідниках з математичної статистики наведено значення критерію Ст'юдента для трьох рівнів статистичної значущості (p). Формула для розрахунку [66]:

$$f=d=v= n_1 + n_2 – 2, \quad (2.17)$$

де n_1 і n_2 – обсяги порівнюваних вибірок.

Результати статистичної обробки подані у вигляді $x_{ср}±m$, де $x_{ср}$ – відображає середнє значення показника та його стандартну похибку (m). При рівні значущості $p \leq 0,05$ відмінності між середніми значеннями вважали статистично достовірними.

Такий підхід забезпечував об’єктивність інтерпретації отриманих даних і дозволяв визначити напрямок та ступінь впливу гірудотерапії на зміни лейкоцитарних індексів периферичної крові нелінійних щурів.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Лейкоцитарні показники крові нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі

Досліджено лейкоцитарні показники крові нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі. Результати загальної кількості лейкоцитів та лейкоцитарної формули контрольної та дослідної груп тварин, представлено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Результати загальної кількості лейкоцитів та лейкоцитарної формули (x±m) контрольної і дослідної (гірудовплив) груп лабораторних щурів

Показник	Од. вимір.	Контроль, n=9	Гірудо-вплив, n=9	p	Дослідна ↑/↓ від контролю, %
1	2	3	4	5	6
Кількість лейкоцитів	Г/л	7,98± 0,252	8,89± 0,077 *	0,006946	↑ 11,4
Еозинофіли	%	4,17± 0,382	2,60± 0,182 *	0,003648	↓ 37,6
	Г/л	0,336± 0,0360	0,232± 0,0155 *	0,022693	↓ 30,9
Нейтрофіли всього	%	42,94± 0,884	36,39± 1,885 *	0,009265	↓ 15,2
	Г/л	3,42± 0,087	3,23± 0,163	0,342695	↓ 5,5
Нейтрофіли паличко-ядерні	%	1,83± 0,250	4,50± 0,353 *	0,00002	↑ 145,9
	Г/л	0,147± 0,0237	0,399± 0,0300 *	0,000008	↑ 171,4
Нейтрофіли сегменто-ядерні	%	41,1± 0,93	31,9± 1,66 *	0,000322	↓ 22,4
	Г/л	3,27± 0,082	2,83± 0,145 *	0,021696	↓ 13,5

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6
Моноцити	%	3,5± 0,276	8,7± 0,48 *	0,0000003	↑ 148,6
	Г/л	0,28± 0,029	0,78± 0,045 *	0,0000002	↑ 178,6
Лімфоцити	%	49,5± 0,61	52,28± 1,656	0,14681	↑ 5,6
	Г/л	3,91± 0,148	4,64± 0,161 *	0,00412	↑ 18,7

Примітка. * – результати статистично значимо відрізняються від контролю при $p \leq 0,05$ за t-критерієм Стьюдента.

З представлених результатів бачимо, що загальна кількість лейкоцитів у дослідній групі становить $8,89 \times 10^9$/л, а в контрольній – $7,98 \times 10^9$/л. І хоча в дослідній групі спостерігається на 11,4% більший показник ($p \leq 0,05$), ніж у контролі, все ж в обох групах показник лейкоцитів знаходиться в межах норми.

У обстежених щурів старого віку до і після гірудовпливу загальна кількість лейкоцитів та показники лейкоформули були в межах референтних значень. Практично всі показники лейкоформули, за винятком моноцитів та лімфоцитів, у дослідній групі після курсу гірудовпливу не відрізнялися.

При дослідженні відносних показників лейкоцитарної формули крові виявлено наступні особливості: середнє значення еозинофілів у дослідній групі становило 2,60±0,182% що на 37,6% менше ($p \leq 0,05$) ніж у контрольній групі (4,17±0,382%); середнє значення паличкоядерних нейтрофілів становило 4,50±0,353%, що на 145,9% більше ($p \leq 0,05$) ніж у контрольній групі (1,83±0,250%); середнє значення сегментоядерних нейтрофілів становило 31,9±1,66%, що на 22,4% менше ($p \leq 0,05$) ніж у контрольній групі (41,1±0,93%); середнє загальне значення нейтрофілів становило 36,39±1,885%, що на 15,28% менше ($p \leq 0,05$) ніж у контрольній групі (42,94±0,884%); середнє значення моноцитів становило 8,7±0,48%, що на 148,6% більше ($p \leq 0,05$) ніж у контрольній групі (3,5±0,276%); середнє значення лімфоцитів становило

52,28±1,656%, що на 5,6% більше ($p>0,05$), ніж у контрольній групі (49,5±0,61%). Подібна динаміка змін виявлена і при порівнянні абсолютних показників лейкоцитарної формули крові (табл. 3.1).

Отже, бачимо, що у дослідній групі після гірудовпливу значимі відмінності ($p\leq0,05$) спостерігаються у показниках лейкоцитів, абсолютних та відносних значеннях еозинофілів, відносних та абсолютних значеннях паличкоядерних нейтрофілів, відносних та абсолютних значеннях сегментоядерних нейтрофілів, відносного значення загального показника нейтрофілів, абсолютних та відносних значень моноцитів, а також абсолютних значень лімфоцитів.

Оскільки у щурів, на відміну від людей, лімфоцити переважно є домінуючим типом лейкоцитів у периферичній крові, то їх нормативне значення в обох групах та відсутність статистичних відмінностей свідчить про відсутність запального процесу. В деяких випадках можлива стресова або імунна реакція, яка проявляється у активному збільшенні значень лімфоцитів. Збільшення абсолютної кількості лімфоцитів (на 18,7% при $p\leq0,05$) у дослідній групі є ознакою імунної реакції організму, яка спрямована на адаптацію та нейтралізацію компонентів слини п'явки, і доводить імуномодулюючу дію гірудовпливу. Варто зазначити, що у щурів старого віку можуть спостерігатися прояви вікової інволюції в органах імунної системи.

Спостерігається виражене зниження нейтрофільної ланки – класична ознака зменшення гострої запальної реакції і зниження потреби в фагоцитозі/нейтрофільному захисті. Це може означати ефективне гасіння гострого або підгострого запалення під дією БАР, що містяться в слині МП (антикоагулянти, протизапальні фактори). Разом з тим, підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів може вказувати на «мобілізацію» молодих форм клітин, хоча середні показники знаходяться в межах референтних значень для нелінійних щурів.

Збільшення абсолютних та відносних значень моноцитів відображає активацію імунної системи, яка може бути і наслідком реакції на травматичний

вплив від укусу п’явки і потребує фагоцитозу та загоєння, або ж може вказувати на активацію фагоцитарної ланки імунітету.

Порівняно з контрольною групою, зниження показників еозинофілів у дослідній групі вказує на зменшення алергічної складової та зниження активності тих реакцій, що асоціюються з відкладенням комплексів та паразитарною або алергічною відповіддю.

Отримані результати показують, що після гірудовпливу у нелінійних лабораторних щурів старого віку спостерігається деяке підвищення загальної кількості лейкоцитів та перерозподіл співвідношення основних популяцій лейкоцитарної формули у порівнянні з контрольною групою, де вплив не проводився. Така динаміка свідчить про системну імуномодулюючу реакцію організму. З позицій фізіології це пояснюється дією комплексу БАР, які містяться у секреті МП (гірудин, дестабілаза, апіраза, колагеназа, егліни, бделіни та ін.), що пригнічують синтез протизапальних цитокінів, покращують мікроциркуляцію та зменшують локальне тканинне пошкодження.

Зниження кількості нейтрофілів можна інтерпретувати як зменшення потреби у фагоцитарній відповіді та пригнічення гострого запального процесу, адже саме ця популяція клітин першою реагує на інфекційно-запальні подразники. Зниження рівня еозинофілів свідчить про зменшення алергічної реакції. Збільшення кількості моноцитів може вказувати на зростання потреби організму у клітинах, що відповідають за очистку тканин від продуктів запалення та некрозу.

Отже, результати вказують на те, що у щурів старого віку гірудовплив за досліджуваних умов спричинив підвищення загальної кількості лейкоцитів і зміни співвідношення деяких компонентів лейкоцитарної формули (найбільше – моноцитів і нейтрофілів). Це узгоджується з протизапальним і імуномодулюючим ефектом процедур та може бути інтерпретовано як нормалізація або зниження запальної реакції або інтоксикації.

Виходячи з цього, можна зробити висновки, що гірудовплив корегує показники імунної системи, сприяє її розвантаженню, зменшує надмірну

клітинну активність або посилює недостатню, повертаючи імунологічні показники до гомеостатичного рівня. Це дозволяє розглядати гірудотерапію, як потенційний засіб корекції станів, що супроводжуються хронічним запаленням, імунною перевантаженістю або ослабленням імунної системи.

3.2 Лейкоцитарні індекси нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі

Досліджено лейкоцитарні індекси нелінійних лабораторних щурів старого віку при гірудовпливі. Результати лейкоцитарних індексів контрольної та дослідної груп представлено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Результати лейкоцитарних індексів (x±m) контрольної та дослідної (гірудовплив) груп лабораторних щурів

Показник	Од. вимір.	Контроль, n=9	Гірудовплив, n=9	p	Дослідна ↑/↓ від контролю, %
1	2	3	4	5	6
ІЛГ (lymph/granul)	у.о.	10,54± 0,279	13,84± 1,124 *	0,0191	↑ 31,4
ІСЛМ (lymph/mono)	у.о.	14,88± 1,215	6,11± 0,324 *	0,00006	↓ 58,9
ІСЛЕ (lymph/eos)	у.о.	13,01± 1,583	20,79± 1,530 *	0,0027	↑ 59,8
ІСНМ (neut/mono)	у.о.	12,98± 1,155	4,31 0,364 *	0,00003	↓ 66,8
ІСЕЛ (eos/lymph)	у.о.	0,085± 0,0078	0,050± 0,0039 *	0,00185	↓ 41,2

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
ІСЛНс (lymph/seg)	у.о.	1,199± 0,0405	1,695± 0,1419 *	0,0083	↑ 41,4
ІСНЛ (neut/lymph)	у.о.	0,879± 0,0287	0,711± 0,057 *	0,0231	↓ 19,1
ІСНпЛ (bands/lymph)	у.о.	0,037± 0,0049	0,088± 0,0090 *	0,00034	↑ 137,8
ІСНсМ (seg/mono)	у.о.	12,418± 1,1016	3,778± 0,3164 *	0,00003	↓ 69,6
ІСНсНп (seg/bands)	у.о.	25,67± 3,192	7,33± 0,541 *	0,00047	↓ 71,4

Примітка. * – результати статистично значимо відрізняються від контролю при $p \leq 0,05$ за t-критерієм Стьюдента.

Аналізуючи одержані результати лейкоцитарних індексів, можна стверджувати про суттєві імунологічні зміни у дослідній групі після гірудовпливу порівняно з контрольною.

Збільшення ІЛГ на 31,4% ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи вказує на імуномодулюючий вплив біологічно активних речовин, які знаходяться в слині МП. Це можна пояснити загальною імуностимулюючою дією гірудовпливу на дослідних щурів. Як відомо, ІЛГ характеризує співвідношення між лімфоцитами та гранулоцитами, що є показником балансу клітин гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету.

Значне зниження ІСЛМ після гірудовпливу на 58,9% ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи відбулося через зростання кількості моноцитів, що може свідчити про протизапальний ефект БАР МП, а також про те, що гірудотерапія є ефективною у лікуванні запальних процесів. Як відомо, ІСЛМ дозволяє оцінити стан клітинної ланки імунітету та фагоцитарної активності.

Збільшення індексу ІСЛЕ на 59,8% (p≤0,05) відносно контрольної групи характеризує загальну імунну відповідь організму щурів на біологічно активні речовини у слині медичних п’явок, що в може свідчити про імуномодулюючий ефект гірудовпливу. Як відомо, ІСЛЕ дозволяє визначити аптаційні можливості організму та функціональну активність імунної системи.

Зниження ІСНМ після гірудовпливу на 66,8% (p≤0,05) відносно контрольної групи показує, що такі зміни є відображенням протизапального ефекту гірудовпливу та активації моноцитів і зменшенні нейтрофілів, що в цілому призводить до зниження їх співвідношення. Як відомо, ІСНМ застосовується для відображення участі моноцитів у реалізації фагоцитарної відповіді.

Зменшення ІСЕЛ на 41,2% (p≤0,05) відносно контрольної групи свідчить про зниження рівня клітин, асоційованих з алергічними реакціями, що може вказувати на антиалергічний та десенсибілізуючий ефект гірудотерапії.

Підвищення ІСЛНс на 41,4% (p≤0,05) відображає зменшення потреби у фагоцитарній активності та переході запального процесу у відновну фазу без ознак імунодефіциту. Як відомо, ІСЛНс відображає баланс між специфічними і неспецифічними механізмами захисту організму.

Зниження ІСНЛ на 19,1% (p≤0,05) відносно контрольної групи відбулося через збільшення кількості лімфоцитів та відповідно зменшення кількості нейтрофілів.

Збільшення ІСНпЛ на 137,8% (p≤0,05) свідчить про протизапальний та імуномодулюючий ефект БАР МП, оскільки високий рівень паличкоядерних нейтрофілів є показником гострого запалення або інфекції, а їх зниження та відносне збільшення показника лімфоцитів свідчить про поступове зниження запалення і зміцнення імунітету. Тобто, гірудотерапія сприяє нормалізації імунної відповіді в організмі. Як відомо, ІСНпЛ дозволяє визначити активацію гранулоцитарної системи у відповідь на запальні або стресові чинники.

Зменшення показника ІСНсМ на 69,6% (p≤0,05) відносно контрольної групи свідчить про протизапальну дію гірудину та інших компонентів слини

п’явок на щурів. Як відомо, ІСНсМ дозволяє охарактеризувати стадії перебігу запального процесу та активність фагоцитозу.

Зменшення показника ІСНсНп на 71,4% ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи свідчить про збільшення продукції незрілих форм гранулоцитів на момент обстеження. Як відомо, ІСНсНп є індикатором інтенсивності регенерації клітин нейтрофільного ряду. На фоні загального перерозподілу співвідношення лейкоцитів у формулі крові (збільшення кількості лімфоцитів, моноцитів та зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів) це не свідчить про наявність запального процесу. Тобто, відбувається зменшення кількості нейтрофілів, хоча кількість паличкоядерних форм після гірудовпливу збільшилась, але в межах норми, тому співвідношення менше. Це може свідчити про зменшення навантаження на імунну систему і відсутність факторів, що спричинюють запальні процеси і потребують активного утворення нових нейтрофілів для боротьби з ними.

Таким чином, за даними лейкоцитарних індексів можна зробити висновок, що гірудовплив чинить помітний системний імуномодулюючий вплив, який проявляється: зниженням активності фагоцитарної, гранулоцитарної та лімфоцитарної ланок імунітету; зменшенням ознак ендогенної інтоксикації та гострого запального процесу; нормалізуючим впливом на клітинні співвідношення; зниженням алергічної та гіперергічної реактивності; переходом імунної відповіді від фази напруження до фази стабілізації та регенерації.

У дослідній групі щурів старого віку після гірудовпливу більшість лейкоцитарних індексів демонструють тенденцію до зниження порівняно з контролем. Це свідчить про модифікацію функціональної активності лейкоцитарних популяцій та перерозподіл клітин імунної системи під впливом гірудотерапії.

Насамперед відзначається зменшення індексів, що характеризують взаємозв’язок нейтрофільної та лімфоцитарної ланок (ІСЛМ, ІСНМ, ІСЕЛ, ІСНЛ, ІСНсМ, ІСНсНп). Таке зниження вказує на переважання лімфоцитарної

відповіді над нейтрофільною або ж на зниження активності нейтрофільного ростка. Виражене падіння ІСНсНп свідчить про значне зменшення співвідношення сегментоядерних до паличкоядерних нейтрофілів, що очевидно відбулося через загальний перерозподіл співвідношення лейкоцитів в лейкоцитарній формулі та через зростання кількості паличкоядерних нейтрофілів (варто зазначити, що їх середній показник був в межах референтних значень), через зниження інтенсивності нейтрофільного дозрівання або через вихід молодих форм у периферію.

Отже, проведене дослідження показало, що внаслідок гірудовпливу у нелінійних лабораторних щурів дослідної групи порівняно із контрольною групою відбулися статистично значимі ($p \leq 0,05$) зміни лейкоцитарних індексів крові, які проявляються в нормалізації показників запальної реакції, зниженні рівня інтоксикації та покращенні імунного гомеостазу. В цілому можемо відмітити, що отримані дані можуть оптимізувати методики лікування з урахуванням особливостей гірудовпливу на лейкоцитарну формулу та лейкоцитарні індекси щурів.

Перспективи подальших досліджень вбачаємо у розширенні аналізу лейкоцитарних індексів у різні терміни після гірудовпливу, в порівнянні реактивності лінійних та нелінійних щурів різного віку, а також поглибленому вивченні імуномодулюючих механізмів дії компонентів БАР МП з можливістю подальшого використання результатів у моделях патологічних станів та біомедичних технологіях.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Даний розділ зосереджується на визначенні ключових заходів, спрямованих на забезпечення безпечного виконання досліджень, що стосуються зазначеної тематики. У моїй роботі розглядається дослідження лейкоцитарних показників нелінійних лабораторних щурів при гірудовпливі. Особливу увагу приділяється дотриманню техніки безпеки та правильному використанню обладнання, що сприяє створенню комфортної та здорової робочої атмосфери. Це включає оптимальну організацію робочого місця, регулярне провітрювання приміщення, мінімізацію сторонніх шумів і відволікаючих факторів, а також впровадження раціонального режиму роботи, відповідно до чинних нормативно-правових вимог з охорони праці.

Дослідження проводилося на базі навчально-науково-дослідної лабораторії клітинної та організменної біотехнології Запорізького національного університету. На початковому етапі експериментальної роботи я ознайомилася з наданим керівником інструктажем, а саме з інструкцією № 60 (охорона праці) та № 62 (пожежна безпека).

В рамках дослідження було використано живі біологічні об’єкти, такі як лабораторні щури та медична п’явка, а також біологічні рідини (кров щурів, слина медичної п’явки). У процесі роботи застосовувалися хімічні реактиви, лабораторний посуд, електрообладнання, мікроскоп. Для статистичної обробки отриманих даних та написання кваліфікаційної роботи використовувалася комп’ютерна техніка. Уся експериментальна робота виконувалася в лабораторних умовах.

Отже, необхідно окреслити низку чинників, які могли бути небезпечними під час роботи. До фізичних факторів відносять поранення під час роботи з лабораторними щурами, медичною п’явкою та лабораторним посудом. До хімічних факторів відносять потрапляння на одяг, шкіру або слизові оболонки різноманітних речовин чи реагентів, що можуть чинити подразнюючий вплив

на організм. До біологічних факторів відносять проведення досліджень із живими організмами та біологічними рідинами [68-70].

Лабораторія в якій проводилося дослідження була організована відповідно до вимог ДСН 3.3.6.042-99 [71] і ДСП 9.9.5.-080-02 [72].

Вимоги для безпечного виконання роботи в лабораторії.

Робоче приміщення (в моєму випадку лабораторія) собою спеціально відведене приміщення, яке має свій мікроклімат, що може впливати на стан здоров'я як безпосередньо, так і опосередковано. До основних показників мікроклімату відносять: відносну вологість, температуру, атмосферний тиск та швидкість руху повітря. Тому, важливо організувати оптимальний мікроклімат, щоб організм людини не зазнавав зайвого навантаження, особливо на системи гомеостазу, і, зокрема, на механізми терморегуляції. Робоча атмосфера має забезпечувати максимальну зосередженість дослідника, що можливо лише за комфортних умов [73, 74].

Відповідно до стандартів ДСН 3.3.6.042-99 лабораторія раціонально спроєктована, містить функціонуючу вентиляційну систему для ефективного провітрювання, тобто має високий рівень якості вентиляційної системи, оскільки під час роботи може утворюватися надлишкове тепло, волога, пил, шкідливі пари та гази. Лабораторія також відповідає вимогам щодо гранично допустимих показників дихання учасників процесу (концентрація пилу, мікроорганізмів) [71].

У разі використання отруйних речовин або речовин з неприємним запахом необхідно забезпечити постійний рух повітря. Це можна зробити шляхом відкриття вікон або організації приточно-витяжної вентиляції, яка має відповідати нормам [75].

Під час роботи у лабораторії освітлення має досягати не менше 750 Люкс, незалежно від того, чи є воно природним чи штучним. У лабораторії основне освітлення забезпечується лампами розжарювання та люмінесцентними лампами, що створюють штучне світло. Це зумовлено недостатньою кількістю природного сонячного освітлення [76].

У процесі виконання роботи суворо дотримувалися всіх вимог пожежної безпеки, електробезпеки, а також правил роботи в лабораторії. Усі необхідні дослідження для дипломної роботи проводилися у спеціальному лабораторному халаті, при цьому забезпечувалася чистота і порядок на місці дослідної роботи [77]. При виконанні експериментів, безпосередньо пов'язаних із кров'ю, використовувались одноразові гумові рукавички, задля безпеки [75].

Для особистої підготовки до роботи треба: надягнути спеціальний одяг (халат), отримати відповідний дозвіл, ознайомитися з правилами техніки безпеки, вивчити інформацію про обладнання, матеріали та інструменти, які будуть використовуватись. Робота в лабораторії повинна здійснюватися виключно в присутності другої особи, яка зможе надати допомогу під час небезпечної ситуації або нещасного випадку [75].

Під час виконання завдань слід застосовувати як колективні, так і індивідуальні засоби захисту. Одяг має бути комфортним і не обмежувати рухи. Рекомендується мати окремий рушник для рук, захисні окуляри для запобігання попаданню хімічних речовин в очі [68]. Перед початком роботи обов'язково перевіряються справність обладнання, зокрема цілісність дротів і стан заземлення або занулення пристроїв. Також слід переконатися у наявності засобів для гасіння пожеж і комплекту для надання первинної медичної допомоги [78].

В рамках експериментального дослідження застосовується мірний лабораторний посуд, пробірки. Категорично неприпустимо закривати пробірку пальцем та перемішувати наявну в ній рідину, заповнювати пробірку до країв – це може призвести до проливання речовин і потрапляння їх на шкірні покриви дослідника. Нагріваючи пробірку (якщо це потребує дослід) її відкритий кінець потрібно спрямовувати у протилежний від працюючого напрямок, а також від сусідів по робочому місцю, щоб уникнути ризику потрапляння гарячої рідини на шкіру або в очі. При митті хімічного посуду слід уникати сильного контакту щітки з дном чи стінками ємностей, адже це може спричинити пошкодження скла і, як наслідок, травмування. У раковину суворо заборонено зливати рідини

хімічного походження, леткі речовини з різким запахом, а також небезпечні токсичні субстанції. Подібні дії можуть призвести до випаровування хімічних речовин, що забруднюють повітря в лабораторії і сусідніх приміщеннях. Концентровані кислоти та луги слід попередньо нейтралізувати або достатньо розбавити для уникнення шкоди каналізаційній системі [79].

Під час обробки отриманих даних довелося використовувати електроприлади. У процесі написання роботи я дотримувалася вимог ДНАОП 0.00-1.21-98. Працюючи з комп'ютером слідкувала за тим, аби мої очі знаходилися від монітору на відстані більш ніж 1,5 метра. Час безперервної роботи не перевищував 2 годин. Я робила перерви на 10-15 хвилин для відпочинку очей та розминки [80].

Робота з лабораторним (скляним) посудом вимагає використання мінімальної фізичної сили, щоб уникнути його пошкодження та травмування рук. У разі потреби рекомендується використовувати тканину для захисту шкірних покривів. Луги та кислоти, які вже було використано потрібно зливати у спеціально призначений контейнер окремо, після чого їх слід нейтралізувати перед утилізацією та зливом у каналізацію. Працюючи з кров'ю, обов'язково слід одягати гумові рукавички аби не заразитися різного роду інфекціями у разі будь-якого пошкодження шкіри. Миття посуду повинно базуватися на тих способах очищення, які відповідають характеру забруднень і властивостям речовин, що залишилися всередині [79].

Працюючи з електричним обладнанням, якщо з'являється дим, характерний запах, надмірний шум, стук чи вібрація, або якщо несподівано припиняється робота електрообладнання (відсутність напруги, заклинювання рухомих частин), слід негайно вимкнути пристрій за допомогою вимикача [80]. Після завершення роботи слід зняти халат, шапочку, рукавички та впорядкувати своє робоче місце. Покидаючи робоче приміщення слід перевірити все, що може стати причиною нещасного випадку.

Вимоги щодо пожежної та електробезпеки. Для запобігання аварійним ситуаціям всі вибухонебезпечні роботи треба проводити у витяжних шафах,

оснащених вентиляційною системою. Для первинного пожежогасіння лабораторія повинна бути оснащена ящиком із піском, пожежним відром, совком, лопатою та покривалом із негорючого теплоізоляційного матеріалу [77].

У разі виникнення пожежі необхідно якнайшвидше усунути джерело загоряння. Слід евакуювати присутніх, вимкнути електромережу та почати гасити пожежу використовуючи наявні первинні засоби. Якщо виконати ці дії неможливо, потрібно залишити приміщення, щільно зачинивши вікна та двері для того аби максимально обмежити доступ повітря, який може стати причиною прискорення поширення полум'я та викликати пожежну службу.

Для запобігання ураженню електричним струмом важливо проводити моніторинг справності та цілісності електричних приладів, надійності розеток і наявності заземлення. У випадку ураження струмом потрібно діяти послідовно. Спершу слід знеструмити прилад, який спричинив ураження. Якщо це неможливо зробити безпосередньо, потрібно вимкнути рубильник, що подає живлення до обладнання. Під час надання допомоги забороняється прямий контакт з людиною яка знаходиться під дією електричного струму [78].

Аби організувати безпечну роботу, попередньо слід провести перевірку функціонування штучного освітлення (настільних ламп, підвісних і настінних світильників) та переконатися у відсутності видимих пошкоджень ізоляції струмопровідних кабелів та забезпечити наявність засобів для гасіння пожежі. Для уникнення нещасних випадків з хімічним посудом посудом слід ретельно оглянути кожен предмет на наявність тріщин і переконатися в його цілісності. Перед початком роботи також необхідно перевірити укомплектованість аптечки медикаментами: настойкою йоду, нашатирним спиртом, борною кислотою, перманганатом калію, бинтом, ватою, захисним кремом для рук та вазеліном. Усі лабораторні операції слід виконувати з особливою уважністю та обережністю, щоб запобігти або максимально знизити ризик виникнення нещасних випадків.

Для нейтралізації випадково розлитих на робочу поверхонь (в тому числі підлогу) кислоти чи лугу використовують нейтралізуючі розчини (для лугів – оцтова або лимонна кислоти; для кислот – розчин соди).

Під час нагрівання скляного або фарфорового лабораторного посуду, який має тонкі стінки, важливо запобігати загляданню зверху в посудину для того аби уникнути травмування нагрітою речовиною в момент її розбрискування.

Щоб попередити електротравми, необхідно негайно припинити роботу з електрообладнанням якщо відмічається присутність ледь відчутного неприємного запаху або диму. Також слід звернути увагу на слабкий вплив електричного струму при торканні до приладу, посилений шум, стукіт, вібрацію.

Працюючи з біологічною рідиною (наприклад кров'ю), вона може потрапити на робочий одяг, слизову оболонку або шкіру. Якщо забруднено халат, слід негайно видалити пляму замочивши одяг в дезінфікуючий розчин (хлорантоїн, дезактин, бактолін) за 60 хвилин. Якщо кров потрапила на шкіру її необхідно обробити дезінфікуючим засобом (спирт 70%, розчин перекису водню 3%, розчин йоду 5%). Після чого, цю пошкоджену ділянку двічі промивають мильною водою та витирають стерильним рушником і повторно обробляють дезінфектором. Якщо кров'ю уражено слизову оболонку, слід негайно промити її великим об'ємом чистої води та обробити відповідними засобами: наприклад, закапати 30% розчин альбуциду для очей або прополоскати ротову порожнину 70% розчином спирту [72].

Ураження електричним струмом передбачає такі дії першої допомоги: негайно знеструмити обладнання, перевірити стан постраждалого (при відсутності дихання або пульсу – розпочати серцево-легеневу реанімацію), викликати швидку допомогу (103) [78, 80].

Під час проведення досліджень виконувались роботи з небезпечними хімічними речовинами, що вимагало ретельного контролю для запобігання серйозним ураженням. Для своєчасного визначення ознак отруєння важливо

знати симптоми: бензол викликає запаморочення, головний біль і стан, схожий на сп’яніння; фенол спричиняє місцеву анестезію, а при проникненні в організм провокує важке системне отруєння; формалін (пари) – дискомфорт у грудній клітці, сльозотечу, приступи кашлю, подразнення слизової. Перша допомога передбачає такі дії: у випадку потрапляння токсичних органічних рідин (згаданих вище) через шлунково-кишковий тракт важливо відразу самостійно викликати блювоту аби звільнити шлунок. Після цього постраждалому варто дати молоко та яєчний білок [78, 81].

При опіках хімічними речовинами, уражену ділянку треба негайно промити великим об’ємом проточної води близько 10-15 хвилин. При опіках кислотами – обробити слабким розчином соди (2%), опіках лугами – слабким розчином оцтової кислоти [81].

Серед можливих факторів пожежі можна виділити: несправність опалювальних приладів, ігнорування вимог нормативної документації з пожежної безпеки, поганий технічний стан електричних приладів [77]. Для забезпечення ефективності та результативності роботи важливо дотримуватись правил техніки безпеки. Безпечність проведення експерименту визначається діями експериментатора, умовами робочого середовища та станом обладнання, яке використовується під час досліджень.

Завдяки дотриманню правил техніки безпеки при виконанні роботи вдалося організувати робоче місце таким чином, щоб усунути або мінімізувати вплив усіх небезпечних факторів, а також покращити мікроклімат. Це створило сприятливі умови для максимально ефективного і продуктивного виконання кваліфікаційної роботи.

ВИСНОВКИ

1. Проведене дослідження показало, що гірудовплив не спричиняє виходу загальної кількості лейкоцитів за межі референтних значень: хоча в дослідній групі спостерігається на 11,4% більший показник ($8,89\times10^9$/л, $p\leq0,05$), порівняно з контрольною ($7,98\times10^9$/л), що свідчить про відсутність стресової або патологічної реакції організму на гірудовплив.

2. У структурі лейкоцитарної формули встановлено статистично значимі ($p\leq0,05$) зміни окремих популяцій клітин: зниження рівня нейтрофілів та еозинофілів і одночасне підвищення паличкоядерних нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів. Таке співвідношення імовірно свідчить про зменшення потреби у фагоцитарному захисті, пригнічення гострого запалення та активацію регуляторної й адаптивної ланок імунної системи.

3. Після гірудовпливу виявлено зниження ІСЛМ, ІСНМ, ІСЕЛ, ІСНЛ, ІСНсМ, ІСНсНп та підвищення ІЛГ, ІСЛЕ, ІСЛНс, ІСНпЛ ($p\leq0,05$). Такі зміни супроводжуються зростанням показників, асоційованих із лімфоцитарною активністю, та зниженням індексів, пов’язаних із гранулоцитарною та фагоцитарною відповіддю. Така динаміка вказує на зменшення інтенсивності гострого запалення, зниження ендогенної інтоксикації та нормалізацію клітинних співвідношень. Зниження індексів, які характеризують нейтрофільно-лімфоцитарний баланс, відображає зрушення імунної відповіді у напрямку відновлення та репарації, а також антиалергічний ефект гірудовпливу.

4. Отримані результати свідчать, що гірудотерапія чинить системний протизапальний, імуномодулюючий та десенсибілізуючий вплив, не порушуючи загальних лейкоцитарних параметрів, але сприяючи фізіологічній перебудові лейкоцитарної формули та лейкоцитарних індексів. Це підтверджує ефективність гірудовпливу в нормалізації імунного гомеостазу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Результати проведеного дослідження можуть бути використані у клінічній практиці лікарів-фізіотерапевтів та реабілітологів для обґрунтування застосування гірудотерапії як допоміжного методу корекції запальних реакцій та нормалізації показників лейкоцитарної формули у пацієнтів із хронічними запальними процесами.

Результати можуть бути доцільними у діяльності центрів нетрадиційної та інтегративної медицини для впровадження та корекції схем гірудотерапії, орієнтованих на оптимізацію імунного статусу пацієнтів.

У навчальному процесі (медичні коледжі, університети) результати дослідження можуть бути використані при вивченні окремих тем із фізіотерапії, гірудотерапії, імунології чи патофізіології, як приклад впливу біологічно активних речовин на імунні показники.

У подальших наукових дослідженнях отримані результати можуть слугувати основою для глибших досліджень механізмів дії окремих компонентів слини медичної пя’вки на клітинні ланки імунітету.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Draft genome of the European medicinal leech Hirudo medicinalis (Annelida, Clitellata, Hirudiniformes) with emphasis on anticoagulants / S. Kvist, et al. *Scientific Reports.* 2020. № 10. P. 9885. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-020-66749-5

2. Литвиненко Р. О. Перспективи використання біологічно активних речовин медичної п'явки для підтримки гомеостазу екосистем. *Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: літні диспути*: тези доп. I Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 1-2 серпня 2019 р. Дніпро, 2019. С. 394-399.

3. *Hirudo verbana* as a freshwater invertebrate model to assess the effects of polypropylene micro and nanoplastics dispersion in freshwater / N. Baranzini, et al. *Fish Shellfish Immunol.* 2022. № 127. P. 492-507.

4. Marden J., Mc Clure E., Beka L., Graf J. Host matters: medicinal leech digestive-tract symbionts and their pathogenic potential. Front Microbiol. 2016. Vol. 3, №7. P. 1569. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01569.

5. Hirudinea (Annelida) fauna of some wetlands in Bingöl Province / E. Tuba, et al. *Turkish Journal of Parasitology*. 2022. Vol. 46, №3. P. 228–234.

6. Mustafa C., Çetinkaya O., Kvist S. Function of the waterfowl nests as reproduction and living areas for leeches (Annelida: Hirudinea). *Animal Reproduction Science.* 2021. № 232. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34329918/ (дата звернення: 16.11.2025).

7. Low-level antimicrobials in the medicinal leech select for resistant pathogens that spread to patients / L. Beka, et al. *MBio*. 2018. № 9(4). P. 1318-1328. DOI: 10.1128/mBio.01328-18.

8. Reciprocal immune benefit based on complementary production of antibiotics by the leech Hirudo verbana and its gut symbiont Aeromonas veronii / A. Tasiemski, et al. *Sci Rep.* 2015. № 5. P. 17498. DOI: 10.1038/srep17498.

9. Hirudo verbana microbiota dynamics: a key factor in hirudotherapy-related infections? / D. Karasartova, et al. *Microorganisms*. 2025. № 13 (4). P. 918–922.

10. Leech therapeutic applications / A. Abdualkader, et al. *Indian journal of pharmaceutical sciences.* 2013. № 75 (2). P. 127–137.

11. Singh A. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. *Complementary therapies in clinical practice.* 2010. № 16 (4). P. 213–215.

12. Lemke S., Müller C., Hildebrandt J. Be ready at any time: postprandial synthesis of salivary proteins in salivary gland cells of the haematophagous leech Hirudo verbana. *Journal of Experimental Biology.* 2016. № 219 (8). P. 1139–1145.

13. Hüseyin A., Özyurt Koçakoğlu N, Candan S. Functional morphology of the suckers and teeth of the medicinal leech Hirudo verbana Carena, 1820 (Annelida; Clitellata; Hirudinida): A scanning electron microscope study. *Microscopy Research and Technique.* 2021. № 84 (12). P. 2930–2935.

14. Therapeutic potentials of medicinal leech in Chinese medicine / W. Shaohua, et al. *The American Journal of Chinese Medicine.* 2024. № 52 (04). P. 1027–1051.

15. Stanossek I., Wehrend A. Application of veterinary naturopathy and complementary medicine in small animal medicine – A survey among German veterinary practitioners. *Plos one.* 2022. № 17 (2). URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8884514/ (дата звернення 16.11.2025).

16. Литвиненко Р. О. Імуномодуляторні властивості біологічно активних речовин медичної п’явки в умовах гірудовпливу : дис. канд. біол. наук : 03.00.09. Запоріжжя, 2016. 169 с.

17. 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. *Ann Parasitol*. 2015. № 61 (1). P. 27-35.

18. Амінов Р. Ф. Природний імуномодулятор із тіл медичних п’явок: отримання та застосування : монографія. Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2022. 164 с.

19. Investigating the therapeutic potential of crude leech saliva based on its anticancer, antioxidant, and anti-inflammatory effects / B. Alican, et al. *Current Issues in Molecular Biology.* 2025. № 47 (5). P. 328–330.

20. May salivary gland secretory proteins from hematophagous leeches (Hirudo verbana) reach pharmacologically relevant concentrations in the vertebrate host? / L. Sarah, et al. *PLoS One.* 2013. № 8 (9). URL: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0073809 (дата звернення: 16.11.2025).

21. Kermanian C., Nicole J., Bergman J. Medicinal leech therapy in veterinary medicine: a retrospective study. *Journal of the American Animal Hospital Association.* 2022. № 58 (6). P. 303–308.

22. Applications of leech therapy in medicine: a systematic review / M. Hosseini, et al. *Frontiers in Medicine.* 2024. № 11. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39351007/ (дата звернення: 16.11.2025).

23. Efficacy of Medicinal Leech Therapy in Diverse Clinical Applications: A Comprehensive Study from Azerbaijan / S. Farzali, et al. *Türkiye Parazitolojii Dergisi.* 2025. № 49 (3). P. 120–128.

24. Afify O., Samaa A., Lauder N. Improving symptoms of peripheral artery disease with hirudotherapy. *Cureus.* 2021. №13(7). URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8349300/ (дата звернення: 16.11.2025).

25. Medicinal leech therapy – an overall perspective / A. Sig, et al. *Integrative medicine research*. 2017. № 6 (4). P. 337–343.

26. Historical Article: Hirudo medicinalis: ancient origins of, and trends in the use of medicinal leeches throughout history / I. Whitaker, et al. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2004. № 42 (2). P. 133–137.

27. Barz H. Admirable use of leeches. *Dtsch Arztebl Int*. 2019. № 116 (12). P. 267-269.

28. Afify O., Lauder S. Improving symptoms of peripheral artery disease with hirudotherapy. *Cureus.* 2021. № 7 (13). P. 16-27.

29. Sig A., Guney M., Guclub A., Ozmenc E. Medicinal leech therapy — an overall perspective. *Integrative Medicine Research.* 2017. № 6 (4). P. 337-343.

30. Задорожна Г. О., Хоменко О. М. Методичний посібник для виконання експериментальних робіт із використанням щурів. Дніпро: Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара. 2019. 40 с.

31. Kermanian C. S., Buote N. J., Bergman P. J. Medicinal leech therapy in veterinary medicine: a retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2022. № 58 (6). P. 303-308.

32. Cialdai F., Colciago A., Pantalone D. Effect of unloading condition on the healing process and effectiveness of platelet rich plasma as a countermeasure: study on in vivo and in vitro wound healing models. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. № 21. P. 407-410.

33. Mousavian A., Sabzevari S., Parsazad S., Moosavian H. Leech therapy protects free flaps against venous congestion, thrombus formation, and ischemia reperfusion injury: benefits, complications, and contradictions. *Arch Bone Jt Surg.* 2022. № 10 (3). P. 252-260.

34. Nair H., Ahmad N., Ahmad N. Hirudotherapy in wound healing. *The international journal of lower extremity wounds.* 2022. № 21 (4). P. 425-431.

35. Katarzyna R., Rajfur J., Fras-Łabanc B. Does the use of hirudotherapy reduce pain? A narrative review. *Medical Science Pulse*. 2024. № 18 (2). P. 22-27.

36. Чудак Р. А., Побережець Ю. М. Методичні рекомендації для виконання лабораторних робіт та організації самостійної роботи з дисципліни «Експериментально-біологічна лабораторія та лабораторні тварини» для студентів спеціальності 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» для аграрних вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації. Вінниця : ВНАУ, 2018, 116 с.

37. Validation of medicinal leeches (*Hirudo medicinalis*) as a non-invasive blood sampling tool for hematology and biochemistry profiling in mammals / P. Kvapil, et al. *Front. Vet. Sci.* 2022. № 9. P. 1–11.

38. Duzgun G., Ayşegül Ç., Durmaz A. Medical leeches and hirudotherapy: where is nurse's role. *J Educ Res Nurs.* 2021. № 18 (3). P. 276-281.

39. Методи дослідження в гематології : навчальний посібник / І. О. Дудченко, Г. А. Фадєєва, В. В. Качковська, О. В. Орловський ; за заг. ред. Л. Н. Приступи. Суми : Сумський державний університет, 2019. 55 с.

40. Effects of carbon nanotube environmental dispersion on an aquatic invertebrate, Hirudo medicinalis / R. Girardello et al. *PLoS One.* 2015. № 10 (12). P. 361-144. DOI: 10.1371/journal.pone.0144361.

41. Тимощук О. В., Лембрик І. С., Кочерга З. Р. Простагландини – універсальні біорегулятори в організмі людини (огляд літератури). *Запорізький медичний журнал*. 2018. Т. 20, № 1 (106). С. 121–127.

42. Şenel E., Özkan A., Mumcuoglu K. Scientometric analysis of medicinal leech therapy. *J Ayurveda Integr Med*. 2020. № 4 (11). P. 534-538.

43. Labarite A., Parsh B. How to manage leech therapy. *Nursing*. 2020. №11 (50). P. 11-12.

44. Горбачова С. В. Лейкоцитарна формула. Абсолютна і відносна кількість лейкоцитів. Кількісні зміни лейкоцитів. URL: http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/8139/1/GorbachovaSV17_Lejk_form.pdf (дата звернення: 07.10.2025).

45. Karino M., Okuma S., Ide T. A case of medical leech therapy for venous congestion following forearm flap reconstruction. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2018. №13(45). P. 2135-2137.

46. Сучасна імунологія (курс лекцій) / І. А. Іонов, Т. Є. Комісова, О. М. Сукач, О. О. Катеринич. Харків : ЧП Петров В. В., 2017. 107 с.

47. Girardello R., Baranzin N., Molteni M. The medicinal leech as a valuable model for better understanding the role of a TLR4-like receptor in the inflammatory process. *Cell Tissue Res*. 2019. № 2 (377). P. 245-257.

48. Гасюк О. М. Клітинні основи кровотворення : навч.-метод. посіб. Херсон : ФОП Вишемирський В. С., 2019. 92 с.

49. Case reports and experts opinions about current use of leech therapy in dermatology and cosmetology / E. Ząbkowska, et al. *Cosmetics*. 2022. № 6 (9). P. 1–11.

50. Aminov R. The effect of blood human, domestic and small laboratory animals on the viability and behavior of the medicinal leech. *Annals of Parasitology.* 2023. № 69 (1). P. 1-6.

51. Ахтямова Д. В., Савіна Ю. С. Основні аспекти іммобілізації ферментів на прикладі ліпаз. *Наукові розробки молоді на сучасному етапі* : матеріали XVII Всеукр. наук. конф. молодих уч. та студентів, м. Київ, 26-27 квіт. 2018 р. Київ, 2018. С. 515-516.

52. Ломако В. В., Піроженко Л. М. Лейкоцити крові молодих і старих щурів після загальної кріостимуляції (-120° С). *Problems of Cryobiology & Cryomedicine/Problemy Kriobiologii i Kriomediciny*. 2021. № 31 (1). С. 23-37.

53. Амінов Р. Ф. Гемопоетична активність кісткового мозку щура на фоні впливу сольового екстракту *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. 2018. № 30. С. 87–94.

54. Приходько Я. М., Литвиненко Р. О. Морфофункціональні показники нейтрофільних гранулоцитів крові людини при гірудовпливі. *Освітні та наукові виміри природничих наук* : матеріали II Всеукр. заоч. наук. конф., м. Суми, 8 груд. 2021 р. / ред.: А. О. Корнус та ін. Суми, 2021. С. 92–96.

55. Huang S., Xu L., Sun Y. An improved protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2015. № 26 (3). P. 33-34.

56. Unravelling the extent of diversity within the iberian medicinal leeches (Hirudinea: Hirudo) using molecules and morphology / A. Arias, et al. *Biology* (Basel). 2021. № 4 (10). P. 1–22.

57. Виведення тварин з експерименту. Забір крові, приготування та зберігання біологічного матеріалу. URL: http://surl.li/nomag (дата звернення: 07.10.2025).

58. Клінічна гематологія : метод. вказ. для студентів і лікарів-інтернів / упоряд. Л. В. Журавльова, О. О. Янкевич. Харків : ХНМУ, 2015. 44 с.

59. Коломієць І. А., Ковальчук І. І., Головач П. І., Камрацька О. І. Навчально-методичний посібник для лабораторних занять з «Фізіології сільськогосподарських тварин» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». Львів : ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького, 2022. 80 с.

60. Волощук О. М., Лучик Т. В., Копильчук Г. П. Показники імунореактивності у щурів за умов різних режимів харчування. *Біологія тварин.* 2021. Т. 23, № 1. С. 12–17.

61. Рекалова О. М., Панасюкова О. Р., Коваль Н. Г. Застосування лейкоцитарних індексів при імунологічній оцінці активності запального процесу у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень. *Астма та алергія*. 2017. № 1. С. 27–33.

62. Ломако В. В. Лейкоцитарні показники крові у самців щурів різного віку. *Advances in Gerontology*. 2020. № 10 (2). С. 135–141.

63. Жерновнікова Я. В. Статистична обробка та аналіз наукових даних : навчальний посібник для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю І7 «Терапія та реабілітація» / Жерновнікова Я. В., Пятисоцька С. С., Ольховий О. М. Харків : ХДАФК, 2025. 124 с.

64. Данілов В. Я. Статистична обробка даних : навчальний посібник. Київ, 2019. 156 с.

65. Методологія наукових досліджень в медицині: навч. посібник / В. Д. Бабаджан та ін.; за ред. П. Г. Кравчуна, В. Д. Бабаджана, В. В. М’ясоєдова. Харків : ХНМУ, 2020. 260 с.

66. Основи наукових досліджень : навчальний посібник / укл. Н.П. Кравець ; видання 3-є, випр. і доп. Київ : Вид-во НПУ імені М. П. Драгоманова, 2020. 74 с.

67. Основи статистичного моделювання : навч. посібник / за заг. ред. С. В. Чугаєвської, Н. В. Ковтун. Житомир : Видавництво ПП «Рута», 2022. 604 с.

68. Безпека життєдіяльності та охорона праці : підручник / В. В. Сокуренко та ін. Харків : ХНУВС, 2021. 308 с.

69. Куріс Ю. В. Основи охорони праці та безпека життєдіяльності : навчально-методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти «бакалавр» для студентів всіх спеціальностей денної та заочної форм навчання. Запоріжжя : ЗНУ, 2020. 197 с.

70. Масікевич Ю. Г., Грачова Т. І., Жуковський О. М. Основи охорони праці та охорона праці в галузі (навчальний посібник). Електронний навчальний посібник. Чернівці : БДМУ, 2015. 78 с.

71. ДСН 3.3.6.042-99 Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. БУДСТАНДАРТ Online - нормативні документи будівельної галузі України. URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/docpage?id_doc=14283 (дата звернення: 07.10.2025).

72. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи 9.9.5.-080-02 «Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю» з 28.01.2002 № 1. URL: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0001588-02#Text (дата звернення: 07.10.2025).

73. Основи охорони праці та охорона праці в галузі : навчальний посібник. Електронний навчальний посібник. Чернівці : БДМУ, 2015. URL: http://surl.li/oixkq (дата звернення : 07.10.2025).

74. Голінько В.І. Основи охорони праці : підручник. 2-ге вид. Дніпропетровськ : НГУ, 2014. 271 с.

75. Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Порядок управління медичними відходами, у тому числі вимоги щодо безпечності для здоров’я людини під час утворення, збирання, зберігання, перевезення, оброблення таких відходів» : наказ 31.10.2024 № 1827 з 18 грудня 2024 року за

№ 1938/43283. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1938-24#Text (дата звернення: 07.10. 2025).

76. Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я» : наказ 11.08.2014 № 552 3 вересня 2014 р. за № 1067/25844. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1067-14#Text (дата звернення: 07.10.2025).

77. НАПБ А.01.001-2014 «Правила пожежної безпеки в Україні» – наказ МВС України від 30.12.2014 № 1417. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0252-15 (дата звернення: 07.10.2025).

78. Перша допомога при нещасних випадках у лабораторії. URL: https://studfile.net/preview/5194096/page:3/ (дата звернення: 07.10.2025).

79. Інструкція з охорони праці при роботі зі скляним лабораторним посудом та іншими виробами зі скла | Інструкції для навчальних закладів України. Інструкції для навчальних закладів України | Інструкції з охорони праці, техніки безпеки і пожежної безпеки. URL: https://osvitadocs.com/node/286 (дата звернення: 07.10.2025).

80. ДНАОП 0.00-1.21-98 «Правила безпечної роботи з інструментом та пристроями» – затверджено наказом Держнаглядохоронпраці України від 05.06.1998 № 112. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0382-98 (дата звернення: 07.10.2025).

81. Перша допомога при хімічних отруєннях. URL: https://l-kasa.org.ua/persha-dopomoha-pry-khimichnykh-otruienniakh/ (дата звернення: 07.10.2025).