

УДК 615.811:[57.083:612.13]

ИММУННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ В ПРОЦЕССЕ ГИРУДОТЕРАПИИ

Фролов А.К., Литвиненко Р.А.

ГВУЗ «Запорожский национальный университет» Министерства образования и науки Украины, Запорожье, e-mail: a_frolov@ukr.net, rl11@i.ua

Изучали динамику количественных и функциональных показателей лейкоцитов периферической крови больных под влиянием гирудотерапии. Исследовали венозную кровь 22 доноров и 25 больных с хронической патологией до и в разные сроки после курса гирудотерапии. Анализировали показатели врожденного и адаптивного звена иммунитета. У больных в процессе гирудотерапии выявлены изменения функциональной активности лимфоцитов, которые проявлялись перераспределением соотношения цитоморфометрических классов лимфоцитов: на 1 неделе после гирудотерапии наблюдалось снижение доли малых и больших лимфоцитов, с противоположной динамикой на 3–4 неделе после гирудотерапии. Иммуномодулирующее действие гирудотерапии проявлялось в виде сдвига CD2-регуляторного индекса, активированного в сторону супрессорных механизмов, обеспечивающих противовоспалительное действие биологически активных веществ медицинской пиявки. Гирудотерапия способствовала повышению количества активированных иммунокомпетентных клеток врожденного (фагоциты, натуральные киллеры) и адаптивного (Т-лимфоциты) иммунитета и синтезированных ими цитокинов; индуцировала перераспределение иммунокомпетентных клеток в организме больного путём индукции микроциркуляторных процессов.

Ключевые слова: гирудотерапия, лейкоциты, лимфоциты, цитоморфометрия, фагоцитоз, реакция бластной трансформации лимфоцитов, цитокины

PERIPHERAL BLOOD'S IMMUNE PARAMETERS OF PATIENTS WITH CHRONIC DISEASE DURING HIRUDOTHERAPY

Frolov A.K., Litvinenko R.A.

Zaporizhzhia national university, Zaporizhzhia, e-mail: a_frolov@ukr.net, rl11@i.ua

We studied the dynamics of quantitative and functional leukocytes' parameters of patients' peripheral blood influenced by hirudotherapy. The venous blood of 22 donors and 25 patients with chronic diseases was investigated before and in different terms after the course of hirudotherapy. Were analyzed indicators of innate and adaptive immunity. We have demonstrated the changes of lymphocytes' functional activity at patients in conducting hirudotherapy, which were apparent with the redistribution of lymphocytes' cytomorphometric classes ratio: on the 1 week after hirudotherapy was observed a decrease in the fraction of large and small lymphocytes, on the 3–4 week after hirudotherapy the opposite dynamic was observed. Immunotropic effect of hirudotherapy was shown as a shift of CD2-regulatory index activated in the direction of suppressor mechanisms, providing anti-inflammatory action of medical leeches' biologically active substances. Hirudotherapy helped to increase the number of activated immune cells of innate (phagocytes, natural killer cells) and adaptive (T-lymphocytes) immunity and cytokines synthesized by them; it induced reallocation of immunocompetent cells in patient's body, through the induction of microcirculatory processes.

Keywords: hirudotherapy, white blood cells, lymphocytes, cytomorphometry, phagocytosis, the reaction of lymphocytes' blast transformation, cytokines

На современном научном этапе гирудотерапии (ГТ) принадлежит одно из ведущих мест среди методов традиционной медицины [1, 3]. Данный успех обусловлен широким спектром терапевтического действия комплекса биологически активных веществ (БАВ) медицинской пиявки (МП) на физиологические и морфогенетические состояния систем организма: гемостаз, сосудистый тонус, нервную и эндокринную системы, регенерационные процессы и др. [1, 3, 10]. Очевидно, что большинство из указанных профилактических и терапевтических эффектов прямо или косвенно опосредуются через участие иммунной системы, одной из основных функций которой является регуляция антигенструктурного гомеостаза организма соответственно его генотипу в процессе роста, развития и регенерации [2, 8]. Однако основные механизмы иммуотропного влияния ГТ мало

изучены. Установлены лишь некоторые иммунологические сдвиги под влиянием ГТ: повышение фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) и макрофагов крови [3, 6], проявление антикомплементарных свойств, особенно в отношении классического пути [1]. Поэтому **целью работы** было изучение динамики количественных и функциональных показателей лейкоцитов крови больных под влиянием ГТ.

Материал и методы исследования

Исследовали венозную кровь 22 условно здоровых доноров, интактных к БАВ МП (контроль, женщины, средний возраст – 29,3 ± 1,99 лет), и 25 больных (опыт, 13 женщин и 12 мужчин, средний возраст – 52,0 ± 2,55 лет) с различной хронической патологией (гипертоническая болезнь, варикозное расширение вен, тромбоз, сахарный диабет, остеохондроз и др.) в период ремиссии. Больным амбулаторно проводили стандартный курс ГТ, включающий постановку 25–35 МП аптечного вида (*Hirudo*

verbana, Carena, 1820) на протяжении 3,5–4,5 недель. Обследование проводили до ГТ, на 1 неделе, а также спустя 3–4 недели после окончания курса ГТ. Забор крови осуществлялся из локтевой вены натощак, кровь стабилизировали кристаллическим гепарином (0,2 мг/мл, Спофа).

При оценке лейкоцитарного профиля крови подсчитывали общее количество лейкоцитов и лейкоформулу крови, с параллельной оценкой функциональной активности лимфоцитов в цитоморфометрическом тесте (с помощью окуляра- и объект-микрометра, PZO, Польша). Выделяли малые, средние и большие классы лимфоцитов [8], из которых малые и большие считали активированными на момент обследования. Так, к малым лимфоцитам со средним диаметром 7,0 мкм и менее ($KЛ \leq 7,0$ мкм) относятся: меньшая часть, характеризующая непродуктивный иммуногенез, – преапоптотические лимфоциты, первым признаком которого является карео- и цитопикноз, и большая часть – высоко мигрирующие постпролиферативные лимфоциты. К большим лимфоцитам ($KЛ \geq 11,5$ мкм) принадлежат иммунобласты, активированные Т-лимфоциты и натуральные киллеры. К средним лимфоцитам ($KЛ 7,5–11,0$ мкм) относятся пролонгировано мигрирующие лимфоциты (клетки памяти), меньшая их часть может составлять активированные, как переходная цитоморфометрическая форма больших лимфоцитов.

Содержание $CD2^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ -лимфоцитов определяли с помощью эритроцитарного диагностикума (Витебск, Беларусь), при этом активированными считали высокоавидные лимфоциты, присоединившие 8 и более эритроцитов барана (ЭБ), конъюгированных соответствующими моноклональными антителами ($KЛ \geq 8ЭБ$) [5]. Дополнительно вычисляли $CD2$ -регуляторный индекс активированных ($CD2$ -РИ А) по соотношению количества активированных $CD4$ к сумме активированных $CD8$ и $CD16$ [9]. Основанием для вычисления $CD2$ -РИ вместо общепринятого Т-регуляторного индекса ($CD4/CD8$) является тот факт, что $CD8$ и $CD16$ субпопуляции обеспечивают сходную по молекулярно-клеточным механизмам негативную регуляцию иммуногенеза.

ФАН исследовали *in vitro* с использованием перкарских дрожжей с последующим цитологическим исследованием мазков крови. Изучали следующие показатели ФАН: фагоцитарный показатель (ФП); фагоцитарное число (ФЧ); количество активных фагоцитов (КАФ) – абсолютное число фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови, которое вычисляли исходя из абсолютного содержания нейтрофилов (Нф) в мазке крови и процента фагоцитоза (ФП): $КАФ = (ФП/100) \times Нф$ ($10^9/л$); фагоцитарную емкость крови (ФЕК) – количество микробов, которое могут поглотить фагоциты 1 л крови: $ФЕК = ФЧ \times Нф$ ($10^9/л$) [4].

Определяли потенциальную пролиферативную активность лимфоцитов в микрометоде реакции бласттрансформации (РБТЛ) в вариантах: спонтанная, фитогемагглютинин (ФГА) стимулированная (доза 20 мкг/мл) [4] и антигенстимулированная тканевыми антигенами *H. verbana* [7] (доза 125 мкг/мл) культуры лимфоцитов с оценкой уровня РБТЛ через сутки, морфологическим методом.

Цитокиновый профиль – С-реактивный белок (СРБ), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкин-8 (ИЛ-8) и фактор некроза опухолей- α (ФНО- α) определяли с помощью набора реактивов для количественного

определения содержания цитокинов в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа производства ООО «УкрмедДон», г. Донецк, согласно стандартизированной методике, представленной производителем на автоматическом анализаторе «Chemwell-2910» (Awarenes Tech., США).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 20,0. Проверку данных на нормальность распределения осуществляли с использованием одновыборочного теста Колмогорова–Смирнова, в случае нормального распределения статистическую значимость разницы между исследуемыми группами оценивали по критерию Стьюдента. Достоверными считали различия результатов при $P > 95\%$, $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных уже после 2–3 сеансов ГТ отмечались положительные клинические сдвиги, а к концу курса эта положительная тенденция закрепились в виде стойких клинических улучшений. Изученные иммунологические показатели больных до и в разные строки после ГТ представлены в таблице.

У больных до и в разные сроки после ГТ общее количество лейкоцитов статистически значимо не отличалось от таковых показателей в контроле. У большинства больных ГТ сопровождалась иммуномодулирующим эффектом на количество лейкоцитов с приведением средних показателей к физиологическим значениям, характерным для данного периода обследования. У больных до ГТ по сравнению с контролем отличались все показатели лейкоформулы, за исключением моноцитов, отмечалось повышенное содержание эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, сниженное содержание сегментоядерных нейтрофилов. Практически все показатели лейкоформулы, за исключением мононуклеаров, у больных зависимо от проведения курса ГТ не отличались. В отдаленные строки после ГТ (3–4 неделя) отмечалась нормализация ранее сниженного абсолютного содержания нейтрофилов, по сравнению с контролем. На 1 неделе после ГТ у больных отмечалась тенденция к снижению как относительного, так и абсолютного содержания лимфоцитов ($p > 0,05$) по сравнению с исходными показателями до ГТ, которая на 3–4 неделе по сравнению с 1 изменялась в обратную сторону – отмечалась тенденция к повышению относительного ($p > 0,05$) и абсолютного содержания лимфоцитов ($p < 0,05$). Снижение количества лимфоцитов у большинства больных на 1 неделе после ГТ, вероятно, связано с их депонированием в местах при- ставок МП и санации органов.

Динамика показателей иммунитета периферической крови больных в процессе гиродотерапии, (M ± m)

№ п/п	Иммунные показатели	Ед.	Здоровые, n = 22	Больные, n = 25				
				До ГТ	ГТ 1	ГТ 2		
1	Лейкоциты	Г/л	6,3 ± 0,305	5,6 ± 0,30	5,5 ± 0,31	6,1 ± 0,26		
2	Лейкоформула	Э	%	1,6 ± 0,22	2,8 ± 0,32*	3,0 ± 0,34*	2,1 ± 0,21 ^{Δ2}	
		Нейтрофилы	П	%	3,6 ± 0,34	6,6 ± 0,60*	7,3 ± 0,65*	6,1 ± 0,51*
			С	%	64,8 ± 1,04	56,6 ± 1,69*	56,8 ± 1,59*	57,0 ± 1,40*
			Все-го	%	68,4 ± 1,06	63,2 ± 1,73*	64,1 ± 1,58*	63,2 ± 1,34*
				Г/л	4,33 ± 0,242	3,54 ± 0,208*	3,56 ± 0,225*	3,87 ± 0,187
		М	%	3,9 ± 0,31	3,7 ± 0,32	5,2 ± 0,39 ^{Δ1}	5,9 ± 0,34 ^{Δ2}	
		Л	%	26,0 ± 1,01	30,3 ± 1,77*	27,7 ± 1,66	28,9 ± 1,22	
Г/л	1,62 ± 0,09		1,67 ± 0,129	1,50 ± 0,106	1,76 ± 0,101 ^{Δ3}			
3	КЛ	≤ 7,0 мкм	%	21,2 ± 1,35	19,5 ± 1,87	18,6 ± 1,83	23,4 ± 1,30 ^{Δ3}	
			Г/л	0,35 ± 0,031	0,34 ± 0,045	0,27 ± 0,029	0,42 ± 0,035 ^{Δ3}	
		≥ 11,5 мкм	%	9,1 ± 0,62	12,5 ± 1,21*	10,9 ± 1,04	13,9 ± 0,62 ^{Δ3}	
			Г/л	0,15 ± 0,012	0,20 ± 0,018*	0,17 ± 0,024	0,24 ± 0,018 ^{Δ3}	
		Акт. лимф.	%	30,4 ± 1,33	32,0 ± 1,89	29,5 ± 1,99	37,3 ± 1,11 ^{Δ3}	
Г/л	0,50 ± 0,036		0,54 ± 0,052	0,44 ± 0,039	0,67 ± 0,046 ^{Δ3}			
4	CD2 ⁺ -лимф	Всего	%	62,2 ± 1,64	68,3 ± 0,98*	62,0 ± 0,75 ^{Δ1}	64,5 ± 0,66 ^{Δ2,Δ3}	
			Г/л	1,01 ± 0,057	1,14 ± 0,089	0,93 ± 0,068 ^{Δ1}	1,14 ± 0,069 ^{Δ3}	
		Акт.	%	27,7 ± 1,04	39,5 ± 1,19*	30,3 ± 0,98 ^{Δ1}	43,8 ± 1,44 ^{Δ2,Δ3}	
			Г/л	0,46 ± 0,032	0,67 ± 0,064*	0,46 ± 0,038 ^{Δ1}	0,76 ± 0,049 ^{Δ3}	
		CD2-РИ А		0,99 ± 0,012	1,24 ± 0,010*	0,71 ± 0,008 ^{Δ1}	0,86 ± 0,009 ^{Δ2,Δ3}	
5	РБТЛ	СП	%	5,5 ± 0,47	6,7 ± 0,67	18,5 ± 1,04 ^{Δ1}	12,4 ± 0,57 ^{Δ2,Δ3}	
		ФГА	%	67,6 ± 2,35	64,3 ± 1,71	70,9 ± 1,43 ^{Δ1}	74,6 ± 1,34 ^{Δ2,Δ3}	
		АП	%	10,9 ± 0,90	12,0 ± 1,04	24,8 ± 0,72 ^{Δ1}	29,1 ± 0,77 ^{Δ2,Δ3}	
6	ФАН	ФП	%	50,5 ± 1,14	50,0 ± 1,52	60,9 ± 1,39 ^{Δ1}	64,1 ± 1,33 ^{Δ2,Δ3}	
		ФЧ	ед./кл.	2,50 ± 0,104	3,12 ± 0,126*	3,88 ± 0,126 ^{Δ1}	4,21 ± 0,091 ^{Δ2,Δ3}	
		ФЕК	Г/л	10,76 ± 0,703	11,12 ± 0,874	13,75 ± 0,998 ^{Δ1}	16,13 ± 0,759 ^{Δ2,Δ3}	
		КАФ	Г/л	2,18 ± 0,129	1,79 ± 0,120*	2,16 ± 0,144 ^{Δ1}	2,48 ± 0,123 ^{Δ2}	
7	ЦП	ИЛ-1β	пг/мл	1,71 ± 0,348	7,67 ± 0,932*	8,46 ± 0,875*	13,25 ± 1,479 ^{Δ2,Δ3}	
		ИЛ-8	пг/мл	1,99 ± 0,303	17,62 ± 3,229*	18,79 ± 2,869*	23,75 ± 2,807 ^{Δ2,Δ3}	
		ФНО-α	пг/мл	1,51 ± 0,330	7,92 ± 2,022*	10,36 ± 1,898*	12,30 ± 1,336*	
		СРБ	мг/л	0,45 ± 0,061	2,48 ± 0,505*	2,56 ± 0,458*	2,02 ± 0,250*	

Примечания: Ед. – единицы измерения; КЛ – цитоморфометрические классы лимфоцитов; СП – спонтанная РБТЛ; АП – РБТЛ, стимулированная тканевыми антигенами аптечной пиявки; Акт. – активированные; ЦП – цитокиновый профиль; ГТ 1 – обследование больных на 1 неделе после курса ГТ; ГТ 2 – обследование больных на 3–4 неделе после ГТ; * – различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$; ^{Δ1} – различия между группой до ГТ и ГТ 1 достоверны при $p < 0,05$; ^{Δ2} – различия между группой до ГТ и ГТ 2 достоверны при $p < 0,05$; ^{Δ3} – различия между группой ГТ 1 и ГТ 2 достоверны при $p < 0,05$.

В процессе ГТ отмечены не только количественные, но и функциональные изменения показателей лимфоцитов периферической крови. Количество активированных малых лимфоцитов (КЛ ≤ 7,0 мкм) у больных до ГТ было незначительно ниже (19,5 ± 1,87%, $p > 0,05$), чем в контроле (21,2 ± 1,35%), а больших – статистически значимо больше (12,5 ± 1,21%, $p < 0,05$), чем в контроле (9,1 ± 0,62%). На 1 неделе

после курса ГТ по сравнению с исходными показателями до ГТ отмечалась тенденция к снижению количества малых и больших лимфоцитов ($p > 0,05$) с обратной тенденцией на 3–4 неделе после ГТ: повышение количества малых и больших лимфоцитов (статистически значимо по сравнению с 1 неделей после ГТ, но незначимо по сравнению с исходными показателями). Невысокие уровни малых лимфоцитов в пе-

риферической крови больных с различной хронической патологией до и на 1 неделе после ГТ, вероятно, связаны с их депонированием в очагах воспаления. Незначительное повышение содержания больших лимфоцитов, которые также относятся к активированным, на 3–4 неделе после ГТ, вероятно, связано со стимуляцией БАВ МП морфогенетических гомеостатических реакций, контролируемых иммунной системой. Общее содержание активированных лимфоцитов у исследованного контингента лиц соответствовало конкретным иммунологическим ситуациям: до ГТ наблюдалась тенденция к повышению содержания активированных лимфоцитов по сравнению с контролем на 1 неделе после ГТ – незначительная тенденция к снижению, на 3–4 неделе – статистически значимое повышение содержания активированных лимфоцитов, по сравнению с контролем и 1 неделей после ГТ.

В процессе ГТ также выявлены изменения в популяционном и субпопуляционном составе лимфоцитов. Так, у больных до ГТ отмечено статистически значимое повышение содержания CD2⁺-лимфоцитов (Т-лимфоцитов), а также их активированной фракции (КЛ ≥ 8 ЭБ) по сравнению с контролем ($p < 0,05$). На 1 неделе после ГТ у больных отмечено статистически значимое снижение общего количества CD2⁺-лимфоцитов и их активированной фракции по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$), при этом показатели CD2⁺-лимфоцитов не отличались от контроля ($p > 0,05$). Данное снижение общего количества Т-лимфоцитов и их активированной фракции в периферической крови больных, вероятно, также связано с их депонированием в местах санации органов и приставок МП. Последующая активация иммунитета у больных в отдаленные сроки после ГТ (на 3–4 неделе), которая сопровождалась повышением содержания активированной фракции CD2⁺-лимфоцитов на фоне снижения общего количества Т-лимфоцитов по сравнению с исходными значениями до ГТ свидетельствует об адекватной активации иммунной системы, направленной на поддержание коррекции антигенструктурных нарушений в организме больных.

Действие ГТ также было направлено на специфическую перестройку регуляторных субпопуляций лимфоцитов. Так, у части больных, в крови которых было повышено исходное количество CD4⁺ (Т-хелперы) субпопуляции лимфоцитов, данный показатель снижался до физиологических значений. Одновременно с ингибцией CD4⁺ субпопуляции имело место повышение количе-

ства и функциональных показателей среди CD8⁺ (Т-киллеры/супрессоры) и CD16⁺ (натуральные киллеры). Оценка данных хелперно-супрессорных взаимоотношений субпопуляций при иммуногенезе представлена в табл. 1 в виде CD2-РИ А. У больных до ГТ он был повышен по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что свидетельствует о напряжении иммунной системы и повышенной активности CD4⁺ (хелперной активации иммуногенеза). На 1 неделе после ГТ CD2-РИ А снижался за счет супрессии излишней активации иммуногенеза, а через 3–4 недели его значения приближались к норме.

В процессе ГТ также повышалась потенциальная пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови. Так, спонтанная и ФГА-стимулированная РБТЛ у здоровых доноров и больных до ГТ была в пределах нормы (у здоровых доноров – $5,5 \pm 0,47$ и $67,6 \pm 2,35\%$, у больных – $6,7 \pm 0,67$ и $64,3 \pm 1,71\%$ соответственно). Показатели РБТЛ в контроле и у больных до ГТ на антигены МП аптечно-го вида были почти в 2 раза выше спонтанного уровня РБТЛ и равнялись $10,9 \pm 0,90$ и $12,0 \pm 1,04\%$ соответственно. На 1 неделе и особенно на 3–4 неделе после ГТ у больных стимулирующий эффект ГТ проявился во всех видах культур: увеличилась спонтанная и ФГА-стимулированная РБТЛ как показатель потенциальной пролиферативной активности лимфоцитов. В 2–2,5 раза от исходного уровня статистически значимо ($p < 0,05$), увеличилась РБТЛ после ГТ и в антиген-стимулированной культуре, что указывает на повышение количества циркулирующих сенсibilизированных к антигенам МП лимфоцитов в периферической крови.

У больных до ГТ отмечены сниженные значения показателей ФАН: главным образом КАФ, который вместе с ФЧ является наиболее существенным при оценке ФАН. Известно, что снижение ФАН ведет к хронизации воспалительного процесса, способствует поддержанию аутоиммунного процесса [4]. В процессе ГТ у больных нами выявлена активация исходно сниженных до ГТ показателей ФАН, которая сопровождалась повышением всех изученных показателей фагоцитоза на 1 неделе и особенно на 3–4 неделе после ГТ. Таким образом, изученные показатели ФАН после курса ГТ были выше исходных показателей до ГТ и контроля ($p < 0,05$), что связано с активацией врожденного иммунитета под влиянием БАВ МП и соответствует данным других авторов [1, 3, 6].

При анализе цитокинового профиля у больных до и в разные сроки после ГТ обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$)

повышение уровней ИЛ-1 β , ИЛ-8, ФНО- α и СРБ по сравнению со здоровыми донорами. У больных на 1 неделе после ГТ отмечалась статистически не значимая ($p > 0,05$) тенденция к повышению исходных уровней цитокинов, в то время как на 3–4 неделе эта тенденция закрепились в виде статистически значимого повышения уровней ИЛ-1 β , ИЛ-8 по сравнению с показателями до и на 1 неделе после ГТ ($p < 0,05$), что свидетельствует о функциональном напряжении иммунитета, направленного на поддержание коррекции антигенструктурных нарушений в организме больных, и совпадает с выше выявленной активацией клеточного иммунитета.

Таким образом, нами выявлено иммунотропное воздействие БАВ МП, которое заключалось в активации исходно сниженной иммунологической резистенции: активации факторов врожденного и адаптивного иммунитета, адекватной по отношению к определенной ситуации в организме больного.

Выводы

1. ГТ индуцирует перераспределение иммунокомпетентных клеток в организме больного путём индукции микроциркуляторных процессов, которое необходимо отслеживать взятием крови на анализ в динамике.

2. После ГТ повышается количество активированных иммунокомпетентных клеток врождённого (фагоциты, натуральные киллеры) и адаптивного (Т-лимфоциты) иммунитета и синтезированных ими цитокинов.

3. Иммуномодулирующее действие ГТ проявляется в виде сдвига CD2-РИ А в сторону супрессорных механизмов, иммунологически обеспечивающих противовоспалительное действие БАВ МП.

Список литературы

1. Баскова И.П. Гирудотерапия / И.П. Баскова, Г.С. Исаян. – М.: НВП «Гируд И.Н.», 2004. – 506 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие / Г.Н. Дранник, А.Г. Дранник. – 5-е изд., доп. – Киев: Полиграф-плюс, 2011. – 561 с.
3. Каменев О.Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии: руководство для врачей / О.Ю. Каменев, А.Ю. Барановский. – СПб.: ИГ «Весь», 2006. – 304 с.
4. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2000. – 544 с.
5. Количественная и функциональная характеристика состояния иммунной системы методами спонтанного и антителозависимого к CD-структурам розеткообразования с эритроцитами барана / Фролова Л.А., Копейка В.В., Федотов Е.Р., Фролов А.К. // Лаб. диагностика. – 2009. – № 3(49). – С. 6–12.

6. Динамика показателей фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных с синдромом психоэмоционального выгорания при гирудотерапии / Фролов В.М., Гарник Т.П., Пересадин Н.А., Высоцкий А.А. // Український медичний альманах. – 2008. – Т.11, № 4. – С. 175–179.

7. Фролов О.К., Литвиненко Р.О., Копійка В.В., Федотов Є.Р. Спосіб отримання антигенів із медичної п'явки // Патент України № 80665. 2013. Бюл. № 11.

8. Патогенетичний аналіз імунної системи: основні принципи / О.К. Фролов, Є.Р. Федотов, В.В. Копійка, Л.О. Фролова // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2004. – № 3 (27). – С. 14–21.

9. Фуштей І.М., Фролова Л.О., Фролов О.К. Спосіб визначення стану імунної системи людини // Патент України № 68274. 2012. Бюл. № 6.

10. Hildebrandt J.P. Small bite, large impact—saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* / J.P. Hildebrandt, S. Lemke // *Naturwissenschaften*. – 2011. – Vol. 98, № 12. – P. 995–1008.

References

1. Baskova I.P., Isahanjan G.S. *Гирудотерапия*. Moscow: NVP «Гируд И.Н.», 2004. 506 p.

2. Drannik G.N., Drannik A.G. *Klinicheskaja immunologija i allergologija: posobie*. Kiev: Poligraf-pljus, 2011. 561 p.

3. Kamenev O.Ju., Baranovskij A.Ju. *Lechenie pijavkami: teorija i praktika girudoterapii : rukovodstvo dlja vrachej*. St. Petersburg: IG «Ves'», 2006. 304 p.

4. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. *Klinicheskaja ocenka rezul'tatov laboratornyh issledovanij*. Moscow: Medicina, 2000. 544 p.

5. Frolova L.A., Kopejka V.V., Fedotov E.R., Frolov A.K. *Lab. diagnostika*. 2009. no. 3(49). pp. 6–12.

6. Frolov V.M., Garnik T.P., Peresadin N.A., Vysockij A.A. *Ukrains'kij medichnij al'manah*. 2008. Vol. 11, no. 4. pp. 175–179.

7. Frolov O.K., Litvinenko R.O., Kopijka V.V., Fedotov E.R. *Sposib otrimannja antigeniv iz medichnoi p'jivki*. Patent Ukraini. No. 80665. 2013. Bjul. no. 11.

8. Frolov O.K., Fedotov E.R., Kopijka V.V., Frolova L.O. *Eksperimental'na ta klinichna fiziolohija i biokhimiya*. 2004. no. 3 (27). pp. 14–21.

9. Fushtej I.M., Frolova L.O., Frolov O.K. *Sposib viznachennja stanu imunnoi sistemi ljudini*. Patent Ukraini. no. 68274. 2012. Bjul. no. 6.

10. Hildebrandt J.P., Lemke S. *Naturwissenschaften*. 2011. Vol. 98, no. 12. pp. 995–1008.

Рецензенты:

Токаренко А.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии, физиотерапии, курортологии и профпатологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», г. Запорожье;

Сырцов В.К., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Запорожского государственного медицинского университета МЗ Украины, г. Запорожье.

Работа поступила в редакцию 23.08.2013.