

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГИСТОЛОГИИ

Специальность: 020203 – зоология
Специализация: зоология беспозвоночных

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**МОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ И ЭКСПРЕСС-
ОЦЕНКА ПРОДУКТИВНОСТИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ
HIRUDO MEDICINALIS (ANNELIDA; HIRUDINEA)**

Работа завершена:

« 26 » мая 2014 г.  (P.C.Гончарова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
зав. отд. беспозвоночных зоомузея

« 26 » мая 2014 г.  (A.V.Беспятых)

Заведующий кафедрой
кандидат биологических наук, доцент

« 26 » мая 2014 г.  (P. M. Сабиров)

Казань – 2014

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1. Общая характеристика класса Hirudinea и некоторых его представителей. Использование медицинской пиявки. Обзор литературы.....	6
1.1. Общая характеристика класса Hirudinea.....	6
1.2. Характеристика Hirudo medicinalis и ее подвигов.....	8
1.2.1 Распространение и экология Hirudo medicinalis.....	10
1.2.2 Морфология пиявки.	
1.2.2.1 Внешняя морфология.....	11
1.2.2.2 Внутренняя морфология.....	14
1.2.2.2.1. Пищеварительная система.....	14
1.2.2.2.1.1. Слюнные железы.....	17
1.3. Вещества, содержащиеся в секрете слюнных желез Hirudo medicinalis и терапевтические аспекты гирудотерапии.....	19
1.4 Терапевтические аспекты гирудотерапии.....	23
1.5 Опыт изучения слюнных желез H.medicalis.....	25
2. Материал и методы	28
2.1. Объем материала и характер исследований.....	28
2.2. Методика приготовления гистологических препаратов.....	33
3. Результаты исследований.....	40
3.1. Выявление наибольшей активности слюнных желёз в зависимости от степени насыщения.	40
3.1.1. Режим кормления и подготовка материала.....	40
3.1.2. Изменения слюнных желез в зависимости от насыщения пиявки. Гистологический анализ.....	42
3.2. . Выявление наибольшей активности слюнных желёз в зависимости от возраста	
3.2.1. Слюнные железы ювенильных пиявок.....	46
3.2.2. Слюнные железы половозрелых пиявок.....	49
3.2.2.1 Состояние слюнных желез в зависимости от физиологического состояния пиявки.....	54
3.2. . Выявление наибольшей активности слюнных желёз в зависимости количества приемов пищи в течении жизни. Метод голодного интервала.....	55
ВЫВОДЫ	59
РЕКОМЕНДАЦИИ.....	60
ЛИТЕРАТУРА.....	61
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	66

РЕФЕРАТ

Ключевые слова: *HIRUDO MEDICINALIS*, ГИРУДОТЕРАПИЯ, СЛЮННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ, ГИСТОЛОГИЯ, МОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ, ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКА ПРОДУКТИВНОСТИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ.

С использованием гистологического материала, полученного из серии экспериментов по кормлению медицинских пиявок разных возрастов получены данные об изменении активности слюнных желёз в зависимости от возраста пиявки, степени насыщения, и числа кормлений.

Получены данные о количестве, размерах и объеме слюнных желез пиявок в разных возрастных группах.

На основе анализа гистологического материала выяснено, что морфология слюнных желез у пиявок от возраста 3 месяца до 4 месяцев и кормления с интервалом 7 дней не отличаются.

Установлено отсутствие слюнных желез у ювенильных пиявок, что вероятнее всего связано со спецификой их питания. Формирование слюнных желез и наполнение их секретом начинается в возрасте 1,3 мес, что вероятно связано с изменением спектра питания молодежи пиявок.

Выяснено, что объем и количество слюнных желез зависит не только от возраста пиявки, но и от объемов/интервалов питания.

Даны рекомендации по оценке продуктивности слюнных желез медицинской пиявки на основе гистологического исследования тканей переднего отдела тела.

Выпускная квалификационная работа изложена на 67 страницах, содержит 41 рисунок, 5 таблиц, список литературы 60 источников (40 на иностранных языках).

ВВЕДЕНИЕ

Медицинская пиявка – *Hirudo medicinalis*, один из немногих представителей беспозвоночных животных, широко используемых в медицине и в качестве научного модельного объекта. Свою популярности она приобрела ещё в древности. Упоминания о пользе пиявок встречаются в персидских, древнееврейских и древнеиндийских текстах. Поскольку на протяжении тысячелетий наиболее популярным способом лечения многих болезней являлось кровопускание, то гирудотерапия первоначально оформилась как одно из направлений этой медицинской методики.

Самостоятельным лечение пиявками в те времена еще не стало, поскольку целители считали, что пиявки необходимы только для удаления избытков крови. Применение же червей вместо ножа считалось более удобным, т. к. процедура была абсолютно безболезненной. Тогда не были известны свойства слюны пиявки, хотя опытные медики прошлого догадывались, что использование червей при кровопускании полезнее, чем применение ножа и прочего инструментария.

Это продолжалось до поры пока церковь не запретила использование пиявок в лечебных целях. Возрождение гирудотерапии началось в средневековье, Целебный эффект пиявок стал известен повсеместно пиявок начали применять в разных областях медицины.

На сегодняшний день в пиявки являются интересным объектом исследования во всех отраслях биологии. *H. medicinalis*, как научный объект, таит в себе много остроактуальных секретов, сохраняя прямое предназначение в сфере здравоохранения. Сохранившись спустя тысячелетия, гирудотерапия применяется наряду с традиционным медикаментозным лечением, удачно дополняя его, гарантируя получение устойчивых результатов.

Сейчас гирудотерапия развивается в двух направлениях – это классическое - использование живых пиявок и использование косметических и прочих препаратов на основе экстракта слюнных желез. В последнем случае в производстве используют гомогенат из целых пиявок, либо их переднего конца. Способ получения биологически активной добавки (БАД) для косметических средств преду-

смачивает замораживание и оттаивание живой медицинской пиявки с последующей гомогенизацией пиявочной массы, экстрагированием гомогената и выделением жидкой фазы в качестве целевого продукта - собственно БАД. При этом большое значение приобретают знания о процессах формирования слюнных желез в онтогенезе, динамике их работы и наполнения секретом в зависимости от возраста и физиологического состояния пиявок, а также данные об их топографии.

Для получения ответов на эти вопросы **целью** нашей работы мы определили гистологическое изучение слюнных желёз *Hirudo medicinalis* на разных этапах онтогенеза для определения оптимальной методики их использования в медицинских целях.

Для достижения поставленной цели решался ряд основных задач:

- Анализ литературы по морфологии слюнных желёз *Hirudo medicinalis*.
- Приобретение сертифицированного материала *Hirudo medicinalis* и культивирование пиявок в лабораторных условиях с целью получения особей различного возраста и физиологического состояния.
 - Постановка эксперимента по кормлению медицинских пиявок через определенные интервалы времени с целью последующего мониторинга функционального состояния слюнных желёз.
 - Изучение гистологии переднего отдела тела с целью реконструкции топографии слюнных желез, определения их функционального состояния на разных этапах онтогенеза и разработки рекомендаций по оптимальному использованию.

ВЫВОДЫ

1. При взрослении пиявок от 3 до 4 месяцев и кормлении с интервалом 7 дней в морфологии слюнных желез не было отмечено достоверных различий на гистологическом уровне.

2. При голодании половозрелой пиявки в течение месяца диагностируется увеличение количества клеток слюнных желез в среднем на 78%.

3. Установлено отсутствие слюнных желез у ювенильных пиявок, что вероятнее всего, связано со спецификой питания. Малый объем потребляемой крови, и сравнительно низкие, по отношению к млекопитающим, показатели свертываемости крови рыб и амфибий позволяют молодежи питаться без использования секрета слюнных желез. Впервые клетки слюнных желез появляются у пиявок в возрасте 1,3 мес.

4. В переднем отделе тела медицинской пиявки выделены 5 зон в соответствии с плотностью слюнных желез. Суммарное число желез составляет более 400, а объем их секрета у пиявок в возрасте 1+ год - $2,19 \pm 16 \text{ мм}^3$.

5. У недавно питавшихся пиявок слюнные железы практически отсутствуют. Это связано с характером секреции, которая осуществляется по голокриновому типу, с резорбцией отработавших клеток и образованием новых.

6. Объем и количество слюнных желез зависит не только от возраста пиявки, но и от объемов/интервалов приемов пищи. Чем объем/интервал чаще тем сильнее идет восстановление отработанных клеток с секретом и образование новых.

Рекомендации

1) При получении гомогената пиявок с целью использования его в процессе производства косметических средств и медицинских препаратов для увеличения относительного выхода биологически активных веществ рекомендуется использовать передний отдел тела от 5 до 18 кольца или 10,5 мм без присоски (для пиявок в возрасте 1 года).

2) Рекомендуется перед изготовлением гомогената часто (9-10) кормить объект, после последнего кормления целесообразно отводить 2-3 месяца на восстановления желез, после чего можно использовать пиявок по назначению.

3) При получении биопрепаратов на фабриках может быть рекомендовано выдерживание пиявок без питания в течение как минимум месяца с целью увеличения выхода секрета слюнных желез.