

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ЛЕЙКОЦИТАРНОМ СОСТАВЕ КРОВИ ГАДЮКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*VIPERA BERUS*) И ГАДЮКИ ВОСТОЧНОЙ СТЕПНОЙ (*VIPERA RENARDI*)

Е. Б. Романова¹, Е. И. Соломайкин¹, А. Г. Бакиев², Р. А. Горелов²

¹ Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского
Россия, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

E-mail: romanova@bio.unn.ru

² Институт экологии Волжского бассейна РАН
Россия, 445003, Тольятти, Комзина, 10

E-mail: herpetology@list.ru

Поступила в редакцию 25.07.2016 г.

Изучены лейкоцитарные формулы периферической крови обыкновенной гадюки – *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) из Самарской области (г. Самара) и восточной степной гадюки – *Vipera renardi* (Christoph, 1861) из Саратовской области (Хвалынский район). Выявлены особенности лейкоцитарного состава крови изученных видов, проявляющиеся в преобладании специфической составляющей в иммунных реакциях обыкновенной гадюки по сравнению с восточной степной гадюкой.

Ключевые слова: *Vipera berus*, *Vipera renardi*, лейкоцитарная формула, иммунный статус.

DOI: 10.18500/1814-6090-2017-17-1-2-51-55

ВВЕДЕНИЕ

Исследование взаимодействия популяций гадюк Волжского бассейна с внешней средой с целью установления пределов толерантности и оценки их устойчивости к антропогенным факторам имеет успешную и давнюю историю (Бакиев и др., 2015). Хорошо изучены морфологические характеристики, систематика, сезонная и суточная активность, распространение, питание многих видов гадюк. Однако для интегральной характеристики состояния организма рекомендуется оценить и функциональность иммунной системы – ведущей регуляторной системы поддержания целостности и стабильности организма (Хаитов и др., 1995). Известно, что рептилии (в том числе гадюки) – эволюционно первая группа наземных эктотермных животных, у которых лимфоидные органы и ткани достаточно развиты, что позволяет животным совершенствовать механизмы иммунной защиты и противостоять ксенобиотикам внешней среды (Галактионов, 2004; Ağacan, Cicek, 2014). Врожденный иммунитет гадюк состоит из множества молекул и клеток, которые действуют как неспецифические линии защиты против ксенобиотиков и включают в себя антимикробные пептиды, лизоцим, комплемент и лейкоциты (Medzhitov, Janeway, 2000; Ganz, 2003). У гадюк присутствует и набор неспецифических лейкоцитов, в том числе макрофаги, моноциты, базо-

филы и эозинофилы, обеспечивающих реакции иммунного реагирования (Coico et al., 2003; Zimmerman et al., 2010).

Отмечены качественные различия в адаптивной стратегии представителей батрахофауны при антропогенных трансформациях среды (Вершинин, 2004; Пескова, 2005; Силс, 2008; Романова, 2010; Романова, Николаев, 2014), что позволяет считать изменение лейкоцитарной формулы крови показателем экологического загрязнения. Учитывая, что у рептилий начинается расхождение клеток по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям, изучение их гематологии представляет важный шаг на пути к исследованию иммуногемопоза этих животных в условиях антропогенной трансформации среды.

Целью работы являлся анализ лейкоцитарных формул периферической крови гадюк обыкновенной – *Vipera berus* и восточной степной – *V. renardi* Волжского бассейна.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обыкновенных гадюк (58 особей: самки – 32, самцы – 26) отловили в Красноглинском районе г. Самара в 2014 г., восточных степных гадюк (29 особей: самки – 14, самцы – 15) – в Хвалынском районе Саратовской области в 2015 г. (табл. 1).

Для получения образцов крови змеям делали пункцию верхнечелюстной вены иглой, смоченной

Таблица 1

Количество гадюк, время и места их отлова

Вид гадюк	Самки	Самцы	Время отлова	Место отлова
Обыкновенная гадюка	13	6	22 – 28 мая 2014 г.	Красноглинский район г. Самара (лесопарковая городская зона, часто посещаемая отдыхающими и спортсменами)
	14	2	2 июля 2014 г.	
	3	11	19 сентября 2014 г.	
	2	7	8 мая 2015 г.	
Восточная степная гадюка	9	13	2 – 9 мая 2015 г.	Окрестности с. Апалиха Хвалынского района Саратовской области (буферная зона Национального парка «Хвалынский», на которой проводится умеренный выпас скота)
	5	2	25 сентября 2015 г.	

в растворе гепарина. После этого змей выпустили в места отлова. Полученные мазки крови окрашивали по Романовскому – Гимзе и просматривали с помощью иммерсионного объекта при общем увеличении ($\times 1500$). Дифференцировали следующие типы клеток: гранулоцитарный ряд – миелоциты, гетерофилы, эозинофилы, базофилы, агранулоцитарный ряд – лимфоциты, азурофилы, моноциты (Соколова и др., 1997; Лисничая, Ефимов, 2014), выражая их относительное содержание на 100 встреченных лейкоцитов. Затем рассчитывали индекс сдвига лейкоцитов как отношение суммы гранулоцитов к сумме агранулоцитов.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали непараметрическими методами с расчётом критериев Манна – Уитни и Данна в пакете прикладных программ «Statistica». За уровень статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм периферической крови гадюки обыкновенной из Самарской области характеризовался преобладанием мононуклеарных клеток (70 – 80%) (рис. 1). При этом доля лимфоцитов составляла у самок – $(56.50 \pm 1.34)\%$; у самцов – $(51.59 \pm 1.27)\%$; моноцитов: у самок – $(8.00 \pm 0.57)\%$; у самцов – $(9.33 \pm 0.54)\%$; азурофилов: у самок – $(11.33 \pm 0.62)\%$; у самцов – $(9.43 \pm 0.48)\%$. Доля гранулоцитов составляла 20 – 25%, из них: гетерофильного типа: самки – $(8.69 \pm 0.49)\%$; самцы – $(8.64 \pm 0.48)\%$; эозинофилы: самки – $(7.42 \pm 0.40)\%$; самцы – $(6.85 \pm 0.36)\%$; базофилы: самки – $(4.95 \pm 0.62)\%$; самцы – $(6.52 \pm 0.70)\%$.

Обобщенная лейкограмма крови гадюки обыкновенной выявила статистически значимые различия по количественному содержанию агранулоцитов между самками и самцами. У самок выявлена повы-

шенная доля азурофилов (в 1.19 раза) и лимфоцитов (в 1.07 раза) по сравнению с самцами.

Большую долю в периферической крови степной гадюки составляли агранулоциты (60 – 70%), на долю гранулоцитов приходилось 30 – 35% (рис. 2). Гендерных различий в количественных показателях крови гадюки степной не выявлено.

Отметим, что лейкоцитарный состав периферической крови степной гадюки Саратовской области статистически значимо отличался от лейкограмм гадюки обыкновенной по всем показателям, кроме незрелых клеток агранулоцитарного ряда (азурофилов), доля которых была одинаковой у обоих видов гадюк. При сравнении обобщенных лейкоцитарных формул двух видов гадюк установлено перераспределение долей мононуклеарных клеток, выражающее в возрастании числа моноцитов ($u = 2.74, \alpha = 0.006$) и снижении количества лимфоцитов ($u = 3.60, \alpha = 0.0003$) в крови степной гадюки. Для клеток гранулоцитарного ряда показано снижение доли гетерофилов ($u = 3.01, \alpha = 0.002$), эозинофилов ($u = 4.72, \alpha = 0.000002$) и возрастание числа базофилов ($u = 2.48, \alpha = 0.01$) в периферической крови степных гадюк из Саратовской области по сравнению с аналогичными показателями крови гадюк обыкновенных из Самар-

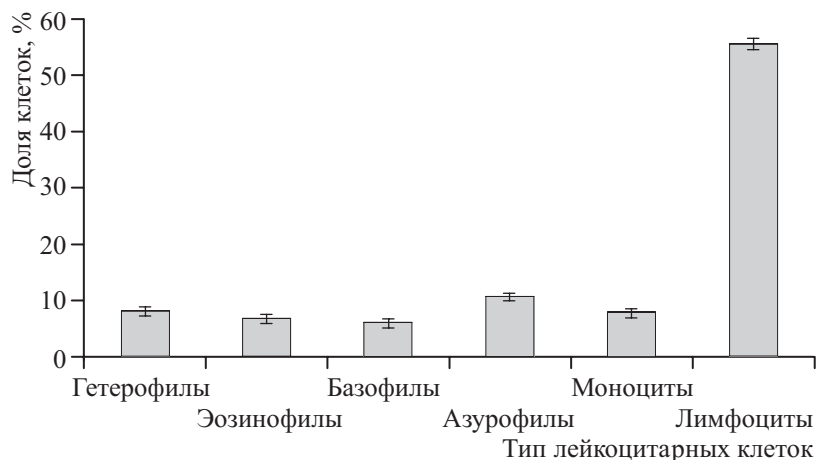


Рис. 1. Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки обыкновенной из Самарской области

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ЛЕЙКОЦИТАРНОМ СОСТАВЕ КРОВИ ГАДЮКИ

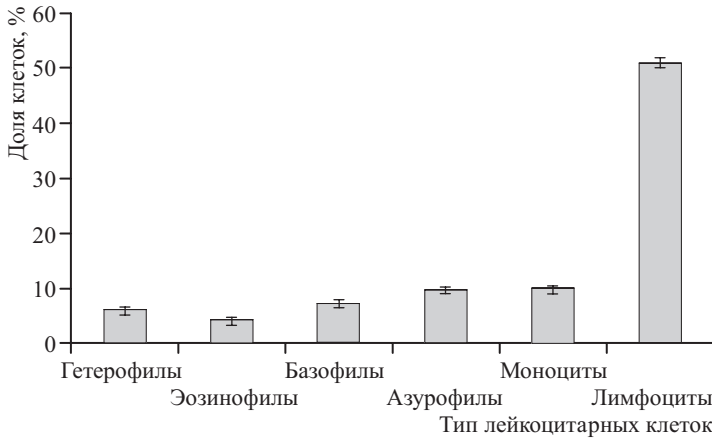


Рис. 2. Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки степной из Саратовской области

ского левобережья (Красноглинский район г. Самара) (табл. 2).

Отметим также более высокое содержание эозинофилов ($z = 3.17, \alpha = 0.008$) в крови самцов гадюки обыкновенной, а в крови самок дополнительно и более высокое содержание лимфоцитов ($z = 3.79, \alpha = 0.0008$) по сравнению с соответствующими гендерными группами степных гадюк.

При этом различий между видами по индексу сдвига лейкограмм не выявлено, что позволяет предполагать наличие сходных механизмов адаптации и защиты от загрязнения у обоих видов гадюк. Известно, что гетерофилы рептилий, функционально эквивалентные нейтрофилам млекопитающих, участвуют в формировании воспалительных реакций с образованием гранулемы, что, в свою очередь, стимулирует сильную реакцию макрофагов (Montal, 1988). Более высокое содержание этих клеток в крови гадюки обыкновенной по сравнению с кровью гадюкой степной ($u = 3.01, \alpha = 0.002$) свидетельствует о повышенном риске возникновения травм или инфекций в местах обитания гадюки обыкновенной.

Подводя итог проведенным исследованиям, можно констатировать активацию иммунитета у

обыкновенной гадюки, вероятно, связанную со спецификой её местообитания в черте г. Самара. В условиях загрязнения и урбанизации возрастает риск развития гнойных и инфекционных заболеваний (Mader, 2000) и наблюдается стимуляция неспецифических механизмов защиты с помощью воспалительной реакции на широкий спектр внеклеточных патогенов ксенобиотической природы. Слабее выражена активация иммунных реакций восточной степной гадюки, обитающей на территории Национального парка «Хвалынский» (Саратовская область, Хвалынский район), которая, по всей видимости, менее подвержена антропогенному воздействию. При этом снижается специфическая реакция иммунной системы (доля лимфоцитов), что компенсируется повышением неспецифических факторов естественной резистентности (доля базофилов) и обеспечивает устойчивое функционирование организма рептилий.

ВЫВОДЫ

1. В лейкоцитарной формуле гадюки обыкновенной *Vipera berus* из г. Самара клетки агранулоцитарного ряда составляли 65 – 75%, гранулоцитарного – 20 – 25%.

2. В лейкоцитарной формуле гадюки восточной степной *V. renardi* из Саратовской области клетки агранулоцитарного ряда составляли 60 – 70%, гранулоцитарного – 30 – 35%. В крови *V. berus* по сравнению с *V. renardi* выявлена пониженная доля базофилов ($u = 2.48, \alpha = 0.01$) и моноцитов ($u = 2.74, \alpha = 0.006$), повышенная доля гетерофилов ($u = 3.01, \alpha = 0.002$), эозинофилов ($u = 4.72, \alpha = 0.000002$) и лимфоцитов ($u = 3.60, \alpha = 0.0003$).

3. Лейкоцитарные формулы периферической крови самцов и самок гадюки обыкновенной значительно различались по количественному содержанию агранулоцитов. У самок обнаружена повышенная доля азурофилов ($u = 2.03, \alpha = 0.04$) и лимфоцитов ($u = 2.12, \alpha = 0.033$).

Таблица 2

Лейкоцитарный состав периферической крови гадюк

Показатель лейкограммы, %	<i>Vipera berus</i>	<i>Vipera renardi</i>	Критерий Манна – Уитни (u, α)
Гетерофилы	8.21±0.39	6.18±0.46	3.01, 0.002
Эозинофилы	6.92±0.31	4.40±0.34	4.72, 0.000002
Базофилы	6.11±0.58	7.42±0.58	2.48, 0.01
Азурофилы	10.86±0.44	10.00±0.39	1.52, 0.12
Моноциты	7.93±0.41	9.96±0.59	2.74, 0.006
Лимфоциты	55.63±0.99	50.98±0.97	3.60, 0.0003
Индекс сдвига лейкоцитов, отн. ед.	0.29±0.01	0.25±0.01	1.51, 0.12

Примечание. Статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакиев А. Г., Гаранин В. И., Гелаивили Д. Б., Горелов Р. А., Доронин И. В., Зайцева О. В., Зиненко А. И., Клёнина А. А., Макарова Т. Н., Маленёв А. Л., Павлов А. В., Петрова И. В., Ратников В. Ю., Старков В. Г., Ширяева И. В., Юсупов Р. Х., Яковлева Т. И. 2015. Гадюки (Reptilia : Serpentes: Viperidae : *Vipera*) Волжского бассейна. Ч. 1. Тольятти : Кассандра. 234 с.
- Вершинин В. Л. 2004. Гемопозз бесхвостых амфибий – специфика адаптациогенеза видов в современных экосистемах // Зоол. журн. Т. 83, № 11. С. 1367 – 1374.
- Галактионов В. Г. 2004. Иммунология. М. : Изд. центр «Академия». 528 с.
- Лисничая Е. Н., Ефимов В. Г. 2014. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий // Научно-технический бюллетень НДЦ биобезопасности та екологічного контролю ресурсів АПК [Электрон. ресурс]. Т. 2, № 1. С. 61 – 74.
- Пескова Т. Ю. 2005. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязненной среде // Изв. вузов Сев.-Кавказ. региона. Естеств. науки. № 3. С. 66 – 70.
- Романова Е. Б. 2010. Мониторинг состояния иммунной системы зеленых лягушек рода *Rana* в условиях антропогенной трансформации городской среды // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. Вып. 1. С. 131 – 134.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю. 2014. Иммунофизиологические характеристики популяций зеленых лягушек урбанизированной территории // Изв. Самар. науч. центра РАН. Т. 16, № 5-1. С. 616 – 622.
- Силс Е. А. 2008. Сравнительный анализ гематологических показателей остромордой (*Rana arvalis*, Nilsson, 1842) и озерной (*Rana ridibunda*, Pallas, 1771) лягушек городских популяций // Вестн. Оренб. гос. ун-та. № 10 (92). С. 230 – 235.
- Соколова Ф. М., Павлов А. В., Юсупов Р. Х. 1997. Гематология пресмыкающихся : метод. пособие к курсу герпетологии, большому практикуму и семинарам. Казань : Изд-во Казан. ун-та. 31 с.
- Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Истамов Х. И. 1995. Экологическая иммунология. М. : ВНИРО. 219 с.
- Arican H., Cicek K. 2014. Haematology of amphibians and reptiles : a review // North-Western J. of Zoology. Vol. 10, № 1. P. 190 – 209.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. 2003. Immunology. A Short Course. Hoboken : Wiley-Liss Publ. 500 p.
- Ganz T. 2003. Defensins : antimicrobial peptides of vertebrates // Comptes Rendus Biologies. Vol. 327, № 6. P. 539 – 549.
- Mader D. R. 2000. Normal Hematology of Reptiles // Schalm's veterinary hematology : veterinary hematology / eds. B. V. Feldman, N. C. Jain, J. G. Zinkl. Baltimore : Lippincott Williams and Wilkins. P. 1126 – 1132.
- Medzhitov R., Janeway C. Jr. 2000. Innate immune recognition : mechanisms and pathways // Immunological Reviews. Vol. 173, № 1. P. 89 – 97.
- Montal R. J. 1988. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) // J. Comparative Pathology. Vol. 99, № 1. P. 1 – 26.
- Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. 2010. Understanding the vertebrate innate system : insights from the reptilian perspective // J. Experimental Biology. Vol. 213, iss. 5. P. 661 – 671.

Образец для цитирования:

Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. 2017. Сравнительные данные о лейкоцитарном составе крови гадюки обыкновенной (*Vipera berus*) и гадюки восточной степной (*Vipera renardi*) // Современная герпетология. Т. 17, вып. 1/2. С. 51 – 55. DOI: 10.18500/1814-6090-2017-17-1-2-51-55.

COMPARATIVE DATA ON THE LEUKOCYTIC BLOOD FORMULA OF *VIPERA BERUS* AND *VIPERA RENARDI*

E. B. Romanova¹, E. I. Solomaykin¹, A. G. Bakiyev², and R. A. Gorelov²

¹ Nizhny Novgorod Lobachevsky State University
23 Gagarina Prosp., Nizhny Novgorod 603950, Russia
E-mail: romanova@ibbm.unn.ru

² Institute of Ecology of the Volga River Basin, Russian Academy of Sciences
10 Komzin Str., Togliatti 445003, Russia
E-mail: herpetology@list.ru

The leukocytic formulae of the peripheral blood of *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) from the Samara region (Samara City) and *Vipera renardi* (Christoph, 1861) from the Saratov region (Khvalynsk district)

were studied. Some features of the leukocytic blood composition of the species studied were revealed, manifested by the predominance of a specific component in the immune reactions of *Vipera berus*, in comparison with *Vipera renardi*.

Key words: *Vipera berus*, *Vipera renardi*, leukocytic blood formula, immune status.

REFERENCES

- Bakiev A. G., Garanin V. I., Gelashvili D. B., Gorelov R. A., Doronin I. V., Zaitseva O. V., Zinenko A. I., Klyonina A. A., Makarova T. N., Malenyov A. L., Pavlov A. V., Petrova I. V., Ratnikov V. Yu., Starkov V. G., Shiryayeva I. V., Yusupov R. Kh., Yakovleva T. I. *Vipers (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera) of the Volga Basin*. Tolyatti, Cassandra, 2015, part I. 234 p. (in Russian).
- Vershinin V. L. Hematopoiesis of Anurans – Specific Features of Adaptogenesis in Species in Resent Ecosystem. *Zoologicheskii zhurnal*, 2004, vol. 83, no. 11, pp. 1367–1374 (in Russian).
- Galaktionov V. G. *Immunology*. Moscow, Publ. Center "Academy", 2004. 528 p. (in Russian).
- Lisnychaya Y., Yefimov V. Features Study Morphological Composition of Blood Reptiles. *Scientific and Technical Bull. SIC Biosafety and Environmental Control Resources Agribusiness*, 2014, vol. 2, no. 1, pp. 61–74 (in Russian).
- Peskova T. Yu. Adaptive Variability of Amphibians in Anthropogenic Environment. *Scientific-Educational and Applied J. University News North-Caucasian region. Natural Sciences Series*, 2005, no. 3, pp. 66–70 (in Russian).
- Romanova E. B. The Monitoring of the State of the Immune System of Green Frogs of *Rana* in Conditions of Anthropogenic Transformation of the Urban Environment. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod*, 2010, vol. 1, pp. 131–134 (in Russian).
- Romanova E. B., Nikolaev V. Yu. Immunological Characteristics of the Population of Green Frogs in Urban Territory. *Proc. of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2014, vol. 16, no. 5-1, pp. 616–622 (in Russian).
- Sils E. A. The Comparative Analysis of Hematological Indicators of the Sharp-snouted (*Rana arvalis*, Nilsson, 1842) and Lake (*Rana ridibunda*, Pallas, 1771) Frogs of City Populations. *Vestnik of the Orenburg State University*, 2008, no. 10 (92), pp. 230–235 (in Russian).
- Sokolina F. M., Pavlov A. V., Yusupov R. H. *The Reptile Hematology: the Educational Supply for a Course of Herpetology, Long-term Practical Work and Seminars*. Kazan, Kazan University Press, 1997. 31 p. (in Russian).
- Khaitov R. M., Pinegin B. V., Istamov H. I. *Ecological Immunology*. Moscow, VNIRO Publ., 1995. 219 p. (in Russian).
- Arican H., Cicek K. Haematology of Amphibians and Reptiles: a Review. *North-Western J. of Zoology*, 2014, vol. 10, no. 1, pp. 190–209.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. *Immunology. A Short Course*. Hoboken, Wiley-Liss Publ., 2003. 500 p.
- Ganz T. Defensins: Antimicrobial Peptides of Vertebrates. *Comptes Rendus Biologies*, 2003, vol. 327, no. 6, pp. 539–549.
- Mader D. R. Normal Hematology of Reptiles. In: *Schalm's Veterinary Hematology: Veterinary Hematology*. Eds. B. V. Feldman, N. C. Jain, J. G. Zinkl. Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins, 2000, pp. 1126–1132.
- Medzhitov R., Janeway C. Jr. Innate Immune Recognition: Mechanisms and Pathways // *Immunological Reviews*, 2000, vol. 173, no. 1, pp. 89–97.
- Montal R. J. Comparative Pathology of Inflammation in the Higher Vertebrates (Reptiles, Birds and Mammals). *J. Comparative Pathology*, 1988, vol. 99, no. 1, pp. 1–26.
- Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. Understanding the Vertebrate Innate System: Insights from the Reptilian Perspective. *J. Experimental Biology*, 2010, vol. 213, iss. 5, pp. 661–671.

Cite this article as:

Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiyev A. G., Gorelov R. A. Comparative Data on the Leukocytic Blood Formula of *Vipera berus* and *Vipera renardi*. *Current Studies in Herpetology*, 2017, vol. 17, iss. 1–2, pp. 51–55 (in Russian). DOI: 10.18500/1814-6090-2017-17-1-2-51-55.
