

УДК УДК 574.3.591

ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ УЖА ВОДЯНОГО *NATRIX TESSELLATA* СЕВЕРНОГО И ВОСТОЧНОГО ПРИКАСПИЯ

РОМАНОВА
Елена Борисовна

доктор биологических наук, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, romanova@ibbm.ipp.ru

СОЛОМАЙКИН
Евгений Игоревич

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, e7v4gen5iy@yandex.ru

БАКИЕВ
Андрей Геннадьевич

кандидат биологических наук, Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, herpetology@list.ru

ГОРЕЛОВ
Роман Андреевич

кандидат биологических наук, Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, gorelov.roman@mail.ru

КЛЕНИНА
Анастасия Александровна

кандидат биологических наук, Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, colubrida@yandex.ru

Ключевые слова:
уж водяной
Natrix tessellata
формула крови
лейкоцитарные
индексы
периферическая кровь

Аннотация: Змеи имеют вполне развитую кроветворную и иммунную системы, демонстрируют реакции на весь спектр экологических факторов среды обитания и являются уникальным объектом для экологических исследований. Вопросы оценки иммунного статуса змей под воздействием антропогенного пресса в разных биотопических условиях среды остаются малоизученными, и особенно актуален поиск популяционных маркеров, позволяющих оценить работу эффекторных механизмов иммунной системы, определяющих процесс формирования адаптивных реакций организма. Целью работы являлась сравнительная оценка показателей лейкоцитарной системы крови ужа водяного *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) из популяций Северного и Восточного Прикаспия. Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм периферической крови ужа водяного Северного и Восточного Прикаспия характеризовался преобладанием агранулоцитов (70–75 %), доля гранулоцитов составляла 25–30 %. Установлено перераспределение соотношения гранулоцитов к агранулоцитам в крови особей из популяций разных биотопов. В крови особей Восточного Прикаспия выявлено повышенное содержание гетерофилов, моноцитов и пониженное содержание лимфоцитов по сравнению с выборкой из попу-

ляции Северного Прикаспия. Межполовые различия наблюдались в отношении содержания азурофилов, доля которых в крови самок ужа водяного Северного Прикаспия была выше по сравнению с самцами. Интегральные индексы (ИСГЭ, ИЛГ, ИСГЛ) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови самок и самцов, обитающих в районах Прикаспийской низменности. Выявленные различия в параметрах лейкоцитарной системы крови ужа водяного, возможно, связаны с сезонной онтогенетической активностью змей. Неспецифическая защитная система крови змей быстрее и эффективнее реагирует на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания по сравнению с адаптивными ответами, поэтому в период спаривания именно врожденная система защиты, характеризующаяся более высоким развитием у экотермных животных, обеспечивала максимальную защиту и устойчивое функционирование организма.

© Петрозаводский государственный университет

Рецензент: В. Н. Куранова

Получена: 15 июля 2020 года

Подписана к печати: 28 марта 2021 года

Введение

Ареалы ужеобразных змей рода *Natrix Laurenti*, 1768 охватывают все расположенные на территории Волжского бассейна 39 субъектов Российской Федерации и две области Казахстана (Табачишин, Табачишина, 2002; Чугуевская, 2005; Бакиев и др., 2009). Имеются обширные сведения по морфологии, распространению, численности, плотности, размерно-половой структуре популяций, размножению, сезонной и суточной активности, термобиологии, питанию, паразитам и потребителям ужей рода *Natrix* в Волжском бассейне (Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011; Кленина, Бакиев, 2015; Кленина и др., 2015). Установлено, что змеи имеют вполне развитую кроветворную и иммунную системы и демонстрируют реакции на весь спектр экологических факторов, характерных для среды их обитания (Davis et al., 2008; Kobolkuti et al., 2012; Lisicic et al., 2013). Кровь змей имеет много общего, с одной стороны, с кровью рыб и амфибий, с другой – птиц и млекопитающих (Cooper et al., 1985), что делает их уникальным объектом для экологических исследований. Известно, что клеточные механизмы неспецифической резистентности у рептилий представлены набором лейкоцитов: моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами, реакции адаптивного иммунного ответа обеспечиваются лимфоцитами (Davis et al., 2008; Arican, Cicek, 2010; Павлов, Юсупов, 2015; Васильев, 2016 и др.). Получены популяционные лейкоцитарные формулы крови ужа обыкновенного и ужа водяного Самарской области. Выявлены межвидовые различия, происходящие в крови этих змей до и после откладывания яиц, связанные с актива-

цией естественного иммунитета животных (Романова и др., 2015). Выявлены различия в лейкоцитарном составе крови ядовитых и неядовитых змей (Романова и др., 2017). В настоящее время антропогенная трансформация местообитаний имеет глобальный характер, при этом индивидуальная аккомодация на изменяющиеся экологические условия среды во многом определяется способностью организма нормализовать иммуногематологическую систему гомеостаза. В этой связи актуальность и дальнейшие перспективы изучения адаптивных реакций системы крови и механизмов регуляции защитных функций организма змей не вызывают сомнений и необходимы как для теории, так и для решения практических природоохранных вопросов в области экологии отдельных видов.

Целью работы являлась сравнительная оценка показателей лейкоцитарной системы крови ужа водяного (*Natrix tessellata Laurenti*, 1768) популяций Северного и Восточного Прикаспия в разные периоды сезонной активности.

Материалы

Отлов ужа водяного и лабораторные исследования велись на территории Северного (РФ, Астраханская область) и Восточного (Казахстан, Мангистауская область) Прикаспия (рис. 1). Все работы со змеями проводили в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (International Recommendations..., 2012). В исследованиях использовали только половозрелых змей. Объем материала и краткая характеристика мест отлова представлены в табл. 1.

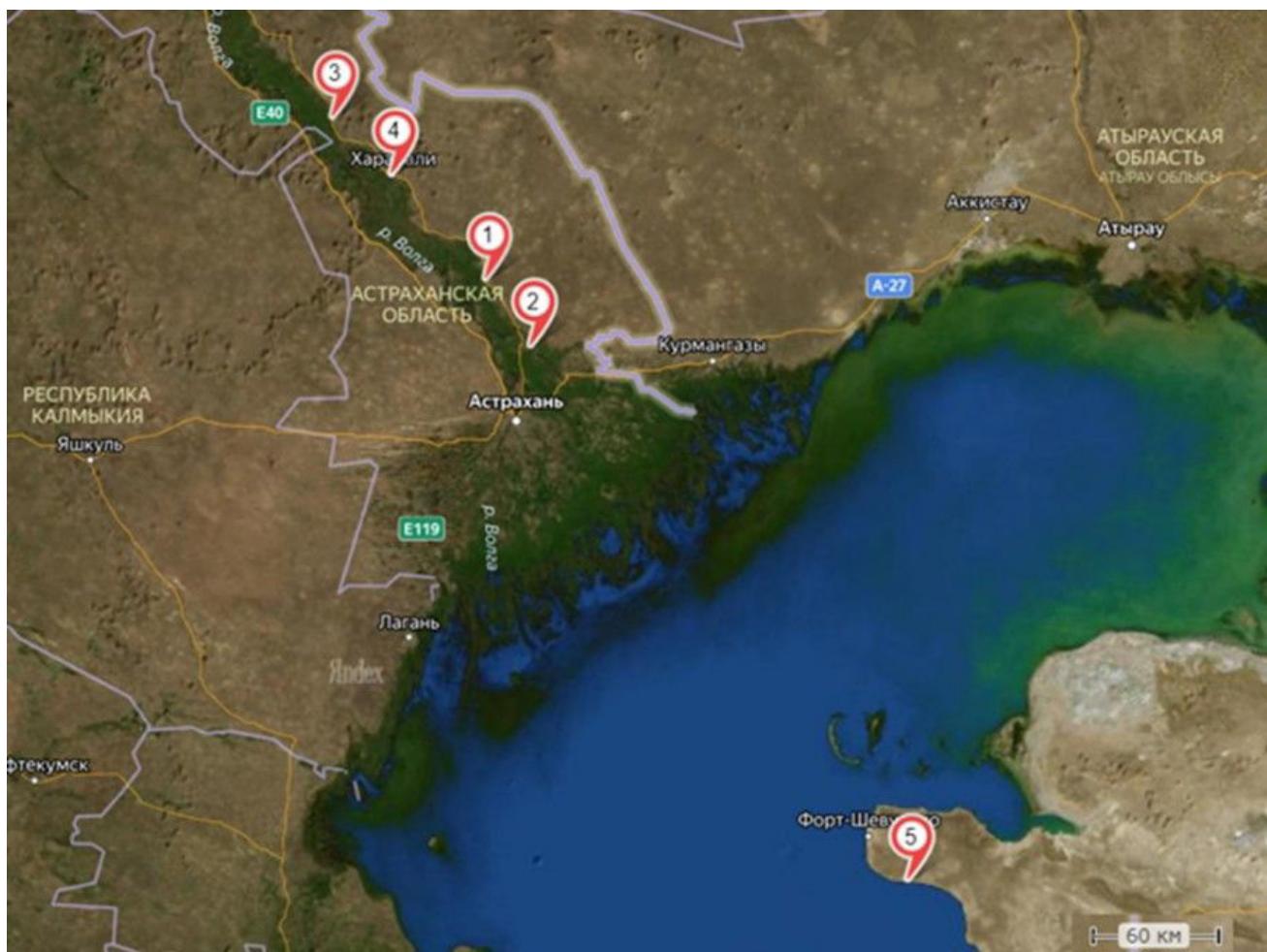


Рис. 1. Карта-схема мест отлова ужа водяного. Северный Прикаспий: 1 – Астраханская область, Красноярский район, пос. Комсомольский, с. Лапас; 2 – Астраханская область, Красноярский район, р. Ахтуба, пос. Белячий, с. Ясын-Сокан; 3 – Астраханская область, Харабалинский район, пос. Бугор, с. Михайловка; 4 – Астраханская область, Харабалинский район, г. Харабали. Восточный Прикаспий: 5 – Казахстан, Мангистауская область, окрестности с. Кзылозен

Fig. 1. Schematic map of *Natrix tessellata* trapping stations. Northern Pre-Caspian: 1 – village Lapas, settlement Komsomol'sky, Krasnoyarsky region, Astrahanskaya oblast'; 2 – v. Jasyn-Sokan, s. Belyachy, Krasnoyarsky region, Astrahanskaya oblast'; 3 – v. Mihaylovka, s. Bugor, Harabalinsky region, Astrahanskaya oblast'; 4 – Harabali city, Harabalinsky region, Astrahanskaya oblast'. Eastern Pre-Caspian: 5 – v. Kazylozen, Mangistauskaya oblast', Kazakhstan

В местах отлова ужей на территории Астраханской области антропогенное влияние было более выражено по сравнению с территорией Казахстана.

Методы

Для получения образцов крови животных обездвиживали путем захвата и делали пункцию верхнечелюстной вены иглой, смоченной в растворе гепарина, для взятия крови и приготовления мазков. Все работы проводились в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (International Recommendations..., 2012). Для каждой особи готовили по два мазка крови. После фик-

сации в смеси спирт : эфир (1 : 1) мазки окрашивали по Романовскому – Гимзе в течение 20 мин. (Ромейс, 1954). Дифференцированный подсчет лейкоцитов проводили на бинокулярном микроскопе Meiji Techno серии MT 4000 с иммерсией ($\times 1500$). Всего проанализировано 206 препаратов и просмотрено 2060 лейкоцитов. С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (азурофилы, моноциты, лимфоциты) (Campbell, 2006; Хайрутдинов, Сокolina, 2010; Павлов, 2019). На основании лейкоцитарной формулы крови рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед.):

Таблица 1. Краткая эколого-географическая характеристика мест отлова ужа водяного *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768)

Время отлова	Место отлова	Самки (экз.)	Самцы (экз.)
<i>Районы Северного Прикаспия</i>			
23.08.17– 24.08.17	Астраханская область, Красноярский район, между пос. Комсомольский и с. Лапас (координаты: 46°55'42.2"N, 47°51'45.6"E) (место водопоя скота и рыбалки местных жителей)	17	8
25.08.17	Астраханская область, Красноярский район, р. Ахтуба, между пос. Белячий и с. Ясын-Сокан (координаты: 46°40'48.4"N, 48°04'12.9"E) (частое место рыбной ловли и проезда автотранспорта)	10	6
26.08.17	Астраханская область, Харабалинский район, между пос. Бугор и с. Михайлова (координаты: 47°36'18.5"N, 46°53'15.2"E) (запруженный участок, частое место отдыха местных жителей)	3	1
26.08.17	Астраханская область, Харабалинский район, южные окрестности г. Харабали (координаты: 47°22'50.2"N 47°17'08.4"E) (близкое расположение населенного пункта, частый проезд автотранспорта)	2	2
	Всего	33	17
<i>Район Восточного Прикаспия</i>			
01.05.19– 2.05.19	Казахстан, Мангистауская область, окрестности с. Кзылозен (координаты 44.17.55 с. ш., 50.30.16 в. д.) (каменистый берег Каспийского моря, редко посещаемый местным населением)	27	27
	Всего	27	27
	Итого		104 экз.

1. Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ), отн. ед.: = \sum гранулоцитов / \sum агранулоцитов;
 2. Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ), отн. ед.: = L/E ;
 3. Индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов (ИСГЭ), отн. ед.: = G/E ;
 4. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ), отн. ед.: = $L \cdot 10/(E + G + B)$;
 5. Индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (ИСГЛ), отн. ед.: = G/L ,
- где L – лимфоциты; E – эозинофилы; G – гетерофилы; B – базофилы.

Статистическая обработка. Анализ полученных данных проводили методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Краскела – Уоллиса (H) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку), Манна – Уитни (U) и Данна (D) (при попарном сравнении групп) в пакете прикладных программ Statistica. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$. При проведении множественных сравнений производилась коррекция критического уровня значимости. С учетом

вида распределения центральные тенденции и рассеяние изученных показателей описывали медианой (Me) и интерквартильным размахом (IQR) (значения 25-го и 75-го процентилей) (Реброва, 2006).

Результаты

Исследование качественного и количественного состава лейкоцитов крови рептилий связано с рядом трудностей, обусловленных как особенностями морфологии клеток, диффузностью кроветворения, так и внешними факторами (Павлов, 2019). Для поддержания гомеостаза организма в специфических условиях среды обитания животные используют набор универсальных эффекторных клеток. У змей это зернистые лейкоциты (гранулоциты), характеризующиеся наличием крупного сегментированного ядра и присутствием в цитоплазме специфических гранул, представлены базофилами, эозинофилами и гетерофилами (Campbell, 2006). Мононуклеарные клетки (азурофильты, моноциты и лимфоциты), в отличие от агранулоцитов млекопитающих, имеют многочисленные мелкие гранулы в

цитоплазме. Моноциты – крупные клетки с бобовидным ядром,мещенным от центра клетки, являются фагоцитами, обрабатывают антигены, высвобождают цитокины – гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий (Arican, Cicek, 2010). Азурофилы имеют меньшие размеры по сравнению с моноцитами, крупное округлое ядро, также характеризуются высокой фагоцитарной активностью (Salakij et al., 2002). Лимфоциты – клетки округлой или овальной формы с округлым ядром, обеспечивают реализацию

специфических реакций иммунной системы организма (Davis et al., 2008).

Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм периферической крови ужа водяного Северного и Восточного Прикаспия характеризовался преобладанием агранулоцитов (70–75 %), доля гранулоцитов составляла 25–30 % (табл. 2). Значимые различия в лейкограммах исследованных выборок ужа водяного выявлены по содержанию как гранулоцитов (гетерофильтов), так и агранулоцитов (моноцитов и лимфоцитов).

Таблица 2. Лейкоцитарный состав периферической крови ужа водяного *Natrix tessellata* Северного и Восточного Прикаспия

Статистические показатели	Гетерофилы, %	Базофилы, %	Эозинофилы, %	Азурофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %
Северный Прикаспий (<i>n</i> = 50)						
Me	5.00	9.50	9.00	8.00	6.50	62.25
IQR	2.00	4.00	4.00	2.00	2.00	7.00
Восточный Прикаспий (<i>n</i> = 54)						
Me	12.00	9.50	8.25	8.00	11.25	51.75
IQR	4.25	5.25	5.25	4.25	5.50	8.50
U	6.68	1.43	0.93	1.28	6.23	5.65
р – уровень значимости	< 0.01	0.15	0.35	0.20	< 0.01	< 0.01

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

Сравнительный анализ лейкограмм не выявил межполовых различий в морфологическом составе периферической крови ужа водяного Восточного Прикаспия. В лейкоцитарном профиле крови *N. tessellata* Северного Прикаспия межполовые различия наблюдались только в отношении азурофилов, доля которых в крови самок была выше по сравнению с самцами ($D = 2.64$, $p = 0.05$). Механизм таких различий между полами не ясен, но можно предположить, что в зависимости от сезонных изменений у полов наблюдаются разные колебания в количестве азурофилов.

Определение лейкоцитарной формулы является необходимой составной частью общего анализа крови. Однако отдельные ее показатели не дают целостного представления о реакциях системы крови и организма на воздействие различных факторов. Поэтому для интегральной оценки состояния системы крови используют лейкоцитарные интегральные индексы, отражающие взаимосвязь клеток крови и позволяющие оценить работу эффекторных механизмов им-

мунной системы.

Сравнительный анализ интегральных показателей выявил в популяции *N. tessellata* Восточного Прикаспия повышенное значение индексов ИСЛ, ИСГЭ, ИСГЛ и более низкое значение ИЛГ по сравнению с популяцией вида Северного Прикаспия (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствовали о перераспределении соотношения гранулоцитов ($U = 2.95$, $p = 0.003$) к агранулоцитам ($U = 1.96$, $p = 0.04$) в крови исследованных популяций. В иммунологических показателях крови особей Восточного Прикаспия преобладала неспецифическая защитная составляющая. Напротив, усредненная лейкограмма особей популяции ужей Северного Прикаспия имела ярко выраженный лимфоцитарный профиль, что свидетельствовало о возрастании специфической реактивности организма (рис. 2). Отметим, что активация специфических реакций иммунной системы (содержание лимфоцитов) прослеживалась в лейкоцитарном составе крови у самцов и самок популяции Северного Прикаспия.

Таблица 3. Значение интегральных индексов периферической крови ужа водяного *Natrix tessellata* Северного и Восточного Прикаспия

Статистические показатели	ИСЛ	ИСЛЭ	ИСГЭ	ИЛГ	ИСГЛ
Северный Прикаспий (<i>n</i> = 50)					
Ме	0.34	7.09	0.61	23.63	0.09
IQR	0.07	3.25	0.38	8.89	0.03
Восточный Прикаспий (<i>n</i> = 54)					
Ме	0.40	6.57	1.43	18.08	0.25
IQR	0.16	4.38	1.04	8.12	0.11
U	3.25	0.58	6.11	4.37	6.78
р – уровень значимости	< 0.01	0.56	< 0.01	< 0.01	< 0.01

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

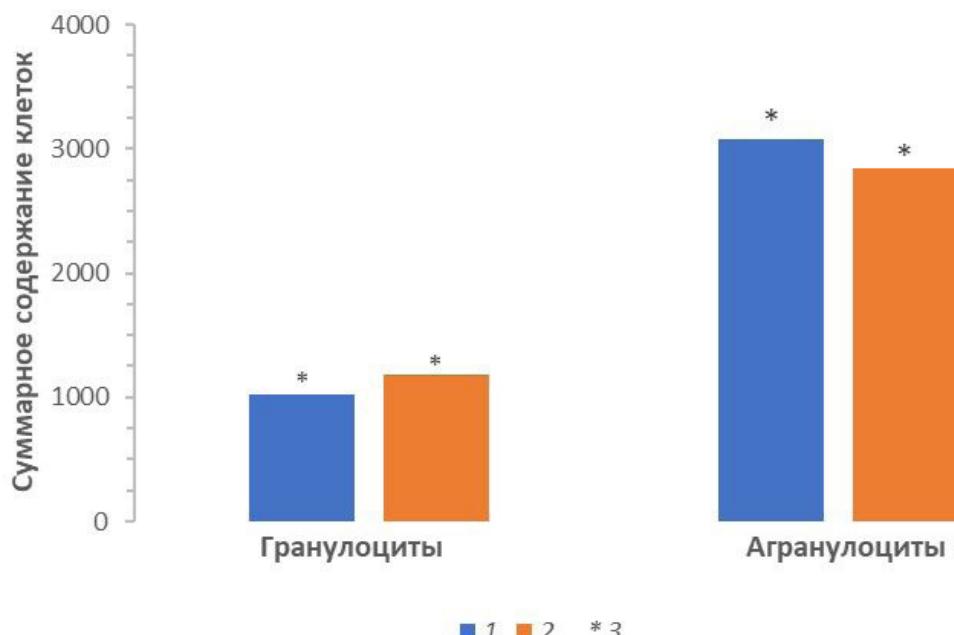


Рис. 2. Перераспределение соотношения гранулоцитов к агранулоцитам в составе периферической крови особей ужа водяного Прикаспийской низменности. 1 – Северный Прикаспий; 2 – Восточный Прикаспий; 3 – статистически значимые различия

Fig. 2. Redistribution of the ratio of granulocytes to agranulocytes in the periferal blood of *N. tessellata* of the Caspian Lowland. 1 – Northern Pre-Caspian; 2 – Eastern Pre-Caspian; 3 – statistically significant differences between groups

Особенностью морфологической картины и самок, и самцов ужа водяного Восточного Прикаспия являлось повышенное содержание в крови гетерофилов и моноцитов, которое статистически значимо превышало аналогичные показатели самок и самцов ужа водяного в популяции Северного Прикаспия (табл. 4).

Количество гетерофилов в крови рептилий может зависеть от наличия заболеваний или повреждения тканей (Campbell, 2006). В мазках крови ужа водяного Восточного Прикаспия токсических гетерофилов (появление

которых связано с бактериальными инфекциями) не наблюдалось. Повышенные доли гетерофилов и моноцитов в крови особей этой выборки ужа могли быть связаны со строго индивидуальными факторами, такими как восприимчивость отдельной змеи к стрессу, наличие микроорганизмов в окружающей среде или некоторые другие внутренние и внешние факторы.

Интегральные индексы (ИСГЭ, ИЛГ, ИСГЛ) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови самок и самцов, обитающих в районах

Таблица 4. Лейкограммы крови самок и самцов ужа водяного *Natrix tessellata* Прикаспийской низменности

Статистические показатели	Гетерофилы, %	Базофилы, %	Эозинофилы, %	Азурофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %
Северный Прикаспий, самки (<i>n</i> = 33)						
Ме	5.00	9.00	10.00	9.00	7.00	59.00
IQR	1.50	3.50	4.00	3.00	1.50	6.50
Восточный Прикаспий, самки (<i>n</i> = 27)						
Ме	12.50	10.00	8.00	8.00	11.00	51.50
IQR	3.50	8.50	4.00	4.50	5.00	10.00
U	5.16	0.13	2.15	0.49	3.99	3.44
р – уровень значимости	<0.001	1.00	0.19	1.00	0.0004	0.003
Северный Прикаспий, самцы (<i>n</i> = 17)						
Ме	5.00	10.00	8.00	7.00	6.00	65.50
IQR	1.75	1.75	3.50	1.00	1.75	5.50
Восточный Прикаспий, самцы (<i>n</i> = 27)						
Ме	11.50	9.00	8.50	8.00	11.50	52.00
IQR	5.25	4.50	5.50	5.00	5.25	8.50
U	4.41	2.33	1.18	2.84	4.88	4.88
р – уровень значимости	< 0.001	0.12	1.00	0.03	< 0.001	< 0.001

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$)

Прикаспийской низменности. Так, например, индексы соотношения гетерофильтов к лимфоцитам (ИСГЛ) и гетерофильтов к эозинофилам (ИСГЭ) были статистически значимо выше у самцов и у самок ужа водяного Восточного Прикаспия по сравнению с особями Северного Прикаспия (рис. 3).

Обсуждение

Подводя итог проведенному исследованию, отметим, что лимфомиелоидный комплекс рептилий достаточно гетерогенен и фактически соответствует лимфоидной системе высокоорганизованных позвоночных животных. Рептилии подвергаются атаке самых разнообразных инфекционных и неинфекционных агентов, действию которых препятствуют две формы иммунного реагирования: неспецифический (врожденный) иммунитет и специфический (адаптивный, приобретенный) иммунитет. Врожденная система характеризуется более высоким развитием, быстро и эффективно реагирует на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания по сравнению с адаптивными ответами. Иммунная система рептилий (наземных эктотермных животных) способна реагировать в широком диапазоне темпера-

тур, но наиболее высокие ответы наблюдаются при определенной, оптимальной для конкретного вида температуре, поэтому исследование иммунных реакций требует учета временных и климатических факторов. Стратегия иммунной защиты определяется не только онтогенетическими особенностями рептилий, но и путем поступления, величиной и длительностью воздействия антигенов (Coico, 2003). Хорошо известно, что на проявление лейкоцитарного профиля крови и иммунный статус организма змей оказывают влияние возраст, пол, физиологическое состояние животных, а также сезоны года и изменение абиотических факторов среды (Павлов, Юсупов, 2015). Перечисленные факторы накладываются друг на друга и оказывают комбинированное действие на организм. Выявленные различия в параметрах лейкоцитарной системы крови между выборками из популяций ужа водяного в первую очередь связаны с сезонной динамикой физиологической активности животных. Уж водяной Северного Прикаспия был отловлен ближе к концу сезона физиологической активности, особи Восточного Прикаспия, напротив, в брачный период, связанный со спариванием и максимальной сезонной ак-

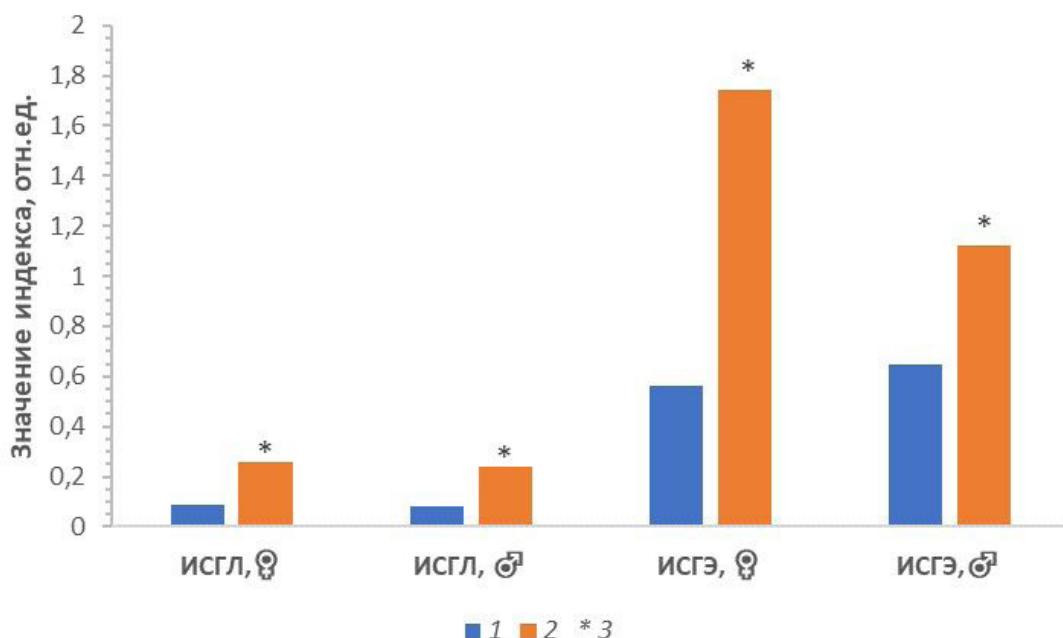


Рис. 3. Значение индекса отношения гетерофилю к лимфоцитам (ИСГЛ) и эозинофилам (ИСГЭ) для самок и самцов ужа водяного Северного и Восточного Прикаспия. 1 – Северный Прикаспий; 2 – Восточный Прикаспий; 3 – статистически значимые различия

Fig. 3. Values of the index of the ratio of heterophiles to lymphocytes in males and females of *N. tessellata* from the Northern and Eastern Pre-Caspian. 1 – Northern Pre-Caspian; 2 – Eastern Pre-Caspian; 3 – statistically significant differences

тивностью. Большинство изменений в организме являются иммуноопосредованными или же напрямую детерминированы влиянием иммунологических факторов. Взаимоотношения организма со средой обитания являются результатом воздействия, с одной стороны, антигенов (ксенобиотиков), а с другой – распознавания и реагирования на эти антигены иммунной системы организма. Любые экологические факторы, изменяющие иммунологическую реактивность организма животных, могут нарушать формирование сложных механизмов обеспечения гомеостатического равновесия в системе «организм – среда обитания».

Заключение

В процессе адаптации к среде обитания и разных сроков онтогенетической активности у змей изменяются показатели клеточной и гуморальной защиты, что отражается на морфологическом составе крови. Вследствие

этого особенно актуален поиск популяционных маркеров, позволяющих оценить работу эффекторных механизмов иммунной системы, а также уровень иммунологической реактивности, определяющие процесс формирования адаптивных реакций. Использованные в работе интегральные лейкоцитарные индексы обладали информативностью, иллюстрировали активацию специфической составляющей иммунитета особей ужа водяного Северного Прикаспия при подготовке к зимовке. Неспецифическая защитная система крови змей быстрее и эффективнее реагирует на широкий спектр патогенных антигенов среди обитания по сравнению с адаптивными ответами, поэтому в период спаривания именно врожденная система защиты, характеризующаяся более высоким развитием у эктотермных животных, обеспечивала максимальную защиту и устойчивое функционирование организма.

Библиография

- Бакиев А. Г., Маленев А. Л., Зайцева О. В., Шуршина И. В. Змеи Самарской области . Тольятти: ООО «Кассандра», 2009. 170 с.
- Васильев Д. Б. Ветеринарная герпетология . М.: Аквариум, 2016. 392 с.
- Кленина А. А., Бакиев А. Г. Объем яиц в кладках обыкновенного ужа *Natrix natrix* и водяного ужа *N. tessellata*: работа над ошибками // Принципы экологии. 2015. Т. 4, № 4. С. 11–21.
- Кленина А. А., Гордеев Д. А., Прилипко С. К. Питание ужей рода *Natrix* в Волгоградской области //

- Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17, № 4 (4). С. 718–720.
- Павлов А. В. Ключевые моменты гематологии рептилий: особенности оценки лейкоцитарной части крови // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 1 (25). С. 138–152. DOI: 10.21685/2307-9150-2019-1-14.
- Павлов А. В., Юсупов Р. Х. Система крови // Гадюки (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) Волжского бассейна. Ч. 1. Тольятти: Кассандра, 2015. С. 137–155.
- Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных . М.: МедиаСфера, 2006. 312 с.
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А., Кленина А. А. Иммуногематологические показатели ядовитых и неядовитых змей на территориях Волжского бассейна с разной антропогенной трансформацией // Известия Самарского НЦ РАН. 2017. Т. 19, № 2. С. 54–61.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Бакиев А. Г., Кленина А. А. Особенности лейкоцитарного состава крови самок обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) (Reptilia: Colubridae) Самарской области // Современная герпетология. 2015. Т. 15. Вып. 1/2. С. 69–76.
- Ромейс Б. Микроскопическая техника / Пер. с нем. проф. В. Я. Александрова и З. И. Крюкова; Под ред. И. И. Соколова. М.: Изд-во иностр. лит., 1954. 719 с.
- Табачишин В. Г., Табачишина И. Е. Распространение и особенности экологии обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) на севере Нижнего Поволжья // Поволжский экологический журнал. 2002. № 2. С. 179–183.
- Хайрутдинов И. З., Сокolina Ф. М. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями среды обитания . Казань: Казанский университет, 2010. 44 с.
- Чугуевская Н. М. Ужи (Serpentes, Colubridae, *Natrix*) Волжского бассейна: Экология и охрана : Автoreф. дис. ... канд. биол. наук. Тольятти, 2005. 20 с.
- Arican H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica. 2010. Vol. 5, No 2. P. 179–198.
- Bakiev A., Kirillov A., Mebert K. Diet and Parasitic Helminths of Dice Snakes from the Volga Basin, Russia // The Dice Snake, *Natrix tessellata*: Biology, Distribution and Conservation of a Palaearctic Species / Mertensiella. 2011. № 18. P. 325–329.
- Campbell T. W. Clinical pathology of reptiles // Reptile medicine and surgery. 2nd edition. St. Louis (MO): Saunders Publishing, 2006. P. 453–470.
- Cooper E. L., Klempau A. E., Zapata A. G. Reptilian Immunity // Biol. Reptilia. New York, 1985. Vol. 14. P. 601–636.
- Coico R. Immunology. A Short Course. Hoboken; NJ: Wiley-Liss Publications, 2003. 237 p.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists // Functional Ecology. 2008. Vol. 22. P. 760–767.
- International Recommendations for Biomedical Research Using Animals. 2012. URL: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf
- Kobolkuti L., Cedar D., Czirjak G., Niculae M. et al. The Effects of Environment and Physiological Cyclicity on the Immune System of Viperinae // The Scientific World Journal. 2012. Vol. 4. DOI: 10.1100/2012/574867
- Lisicic D., Dikic D., Benkovic V., Knezevic A. H. et al. Biochemical and hematological profiles of a wild population of the nose-horned viper *Vipera ammodytes* (serpentes: Viperidae) during autumn, with a morphological assessment of blood cells // Zoological studies. 2013. Vol. 52, № 1. P. 11–20.
- Litvinov N., Bakiev A., Mebert K. Thermobiology and Microclimate of the Dice Snake at its Northern Range Limit in Russia // The Dice Snake, *Natrix tessellata*: Biology, Distribution and Conservation of a Palaearctic Species / Mertensiella. 2011. № 18. P. 330–335.
- Salakij C., Salakij J., Chanhome L. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in Monocellate cobra (*Naja kaouthia*), Siamese spitting cobra (*Naja siamensis*) and Golden spitting cobra (*Naja sumatrana*) // Kasetart J. (Nat. Sci.). 2002. Vol. 36. P. 291–300.

Благодарности

Авторы признательны к. б. н., доценту, старшему научному сотруднику Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника Алексею Владиленовичу Павлову за ценные советы при проведении дифференцированного анализа лейкоцитарного состава крови.

INDICATORS OF THE LEUKOCITE SYSTEM OF THE BLOOD OF THE TESSELATED WATER SNAKE *NATRIX TESSELLATA* OF THE NORTHERN AND EASTERN PRE-CASPIA

ROMANOVA
Elena Borisovna

D.Sc., N.I.Lobachevsky National Research University of Nizhny Novgorod, romanova@ibbm.unn.ru

SOLOMAYKIN
Evgeny Igorevich

N.I.Lobachevsky National Research University of Nizhny Novgorod, e7v4gen5iy@yandex.ru

BAKIEV
Andrey Gennadyevich

Ph.D., Samara Federal Research Center RAS, Institute of Ecology of the Volga River Basin of RAS, Russia, herpetology@list.ru

GORELOV
Roman Andreevich

Ph.D., Samara Federal Research Center RAS, Institute of Ecology of the Volga River Basin of RAS, Russia, gorelov.roman@mail.ru

KLENINA
Anastasia Aleksandrovna

Ph.D., Samara Federal Research Center RAS, Institute of Ecology of the Volga River Basin of RAS, Russia, colubrida@yandex.ru

Keywords:
tesselated water snake
Natrix tessellata
WBC (white blood cells)
leukocyte indexes
peripheral blood

Summary: Snakes have a well-developed hematopoietic and immune system, demonstrate responses to the full range of environmental factors and are a unique object for environmental research. The issues of assessing the immune status of snakes under the influence of anthropogenic press in different biotopic environmental conditions remains poorly understood. Therefore, it is particularly relevant to search for population markers that allow us to assess the work of the effector mechanisms of the immune system determining the process of forming adaptive responses of the body. The aim of the work was a comparative assessment of the leukocyte blood system of the tesselated water snake *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) of the Northern and Eastern Pre-Caspian. The lymphocyte-granulocyte composition of peripheral blood of the water snake *Natrix tessellata* was characterized by a predominance of agranulocytes (70–75 %), the proportion of granulocytes was 25–30 %. The redistribution of the ratio of granulocytes to agranulocytes was established in the blood of individuals of the studied populations from different biotopes. The content of heterophiles, monocytes was increased and content of lymphocytes was reduced in individuals of the Eastern Pre-Caspian compared with individuals of the Northern Pre-Caspian. Intersex differences were observed in the content of azurophils, the proportion of which in the blood of females of the water snake from the Northern Pre-Caspian was higher compared to males. Integral indices (ISGE, ILG, ISGL) revealed the same type of variability in the parameters of the blood leukocyte system of females and males living in the areas of the Caspian lowland. The revealed differences in the parameters of the white blood cell system of water snakes may be related to their seasonal ontogenetic activity. The non-specific protective system of the blood of snakes responds faster and more effectively to a wide range of pathogenic antigens of the environment, compared with adaptive responses. Consequently, during the mating period, it is the innate defense system, characterized by higher development in ectothermic animals that provided maximum protection and stable functioning of the body.

Reviewer: V. N. Kuranova

Received on: 18 July 2020

Published on: 28 March 2021

References

- Arican H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna, *Acta Herpetologica*. 2010. Vol. 5, No 2. P. 179–198.
- Bakiev A. G. Malenev A. L. Zayceva O. V. Shurshina I. V. Snakes of Samara region. Tol'yatti: OOO «Kassandra», 2009. 170 p.
- Bakiev A., Kirillov A., Mebert K. Diet and Parasitic Helminths of Dice Snakes from the Volga Basin, Russia, *The Dice Snake, Natrix tessellata: Biology, Distribution and Conservation of a Palaearctic Species, Mertensiella*. 2011. No. 18. P. 325–329.
- Campbell T. W. Clinical pathology of reptiles, Reptile medicine and surgery. 2nd edition. St. Louis (MO): Saunders Publishing, 2006. P. 453–470.
- Chuguevskaya N. M. Snakes of the genus *Natrix* (Serpentes, Colubridae, *Natrix*) of the Volga Basin: Ecology and Conservation: Avtoref. dip. ... kand. biol. nauk. Tol'yatti, 2005. 20 p.
- Coico R. Immunology. A Short Course. Hoboken; NJ: Wiley-Liss Publications, 2003. 237 p.
- Cooper E. L., Klempau A. E., Zapata A. G. Reptilian Immunity, Biol. Reptilia. New York, 1985. Vol. 14. P. 601–636.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists, *Functional Ecology*. 2008. Vol. 22. P. 760–767.
- Hayrutdinov I. Z. Sokolina F. M. Characterization of reptile blood and its relationship with environmental conditions. Kazan': Kazanskiy universitet, 2010. 44 p.
- International Recommendations for Biomedical Research Using Animals. 2012. URL: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf
- Klenina A. A. Bakiev A. G. Volume of eggs in the clutches of grass snake *Natrix natrix* and dice snake *N. tessellata*: error correction, *Principy ekologii*. 2015. T. 4, No. 4. C. 11–21.
- Klenina A. A. Gordeev D. A. Prilipko S. K. Diet of snakes of the genus *Natrix* in Volgograd region, *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossiyskoy akademii nauk*. 2015. T. 17, No. 4 (4). P. 718–720.
- Kobolkuti L., Cedar D., Czirjak G., Niculae M. et al. The Effects of Environment and Physiological Cyclicity on the Immune System of Viperinae, *The Scientific World Journal*. 2012. Vol. 4. DOI: 10.1100/2012/574867
- Lisicic D., Dikic D., Benkovic V., Knezevic A. H. et al. Biochemical and hematological profiles of a wild population of the nose-horned viper *Vipera ammodytes* (serpentes: Viperidae) during autumn, with a morphological assessment of blood cells, *Zoological studies*. 2013. Vol. 52, No. 1. P. 11–20.
- Litvinov N., Bakiev A., Mebert K. Thermobiology and Microclimate of the Dice Snake at its Northern Range Limit in Russia, *The Dice Snake, Natrix tessellata: Biology, Distribution and Conservation of a Palaearctic Species, Mertensiella*. 2011. No. 18. P. 330–335.
- Pavlov A. V. Yusupov R. H. Blood system, *Gadyuki* (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) Volzhskogo basseyna. Ch. 1. Tol'yatti: Kassandra, 2015. P. 137–155.
- Pavlov A. V. Key points of reptiles hematology: peculiarities of estimation of the leukocyte part of the blood, *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki*. 2019. No. 1 (25). P. 138–152. DOI: 10.21685/2307-9150-2019-1-14.
- Rebrova O. Yu. Statistical analysis of medical data. M.: MediaSfera, 2006. 312 p.
- Romanova E. B. Nikolaev V. Yu. Bakiev A. G. Klenina A. A. Features of leukocyte blood composition of females of grass snake (*Natrix natrix*) and dice snake (*N. tessellata*) in the Samara region, *Sovremennaya gerpetologiya*. 2015. T. 15. Vyp. 1/2. P. 69–76.
- Romanova E. B. Solomaykin E. I. Bakiev A. G. Gorelov R. A. Klenina A. A. Immunohematological indicators of non-poisonous and poisonous snakes on the territories of the Volga river basin with different antropogenic transformation, *Izvestiya Samarskogo NC RAN*. 2017. T. 19, No. 2. P. 54–61.
- Romeys B. Microscopic technique, Per. s nem. prof. V. Ya. Aleksandrova i Z. I. Kryukova; Pod red. I. I. Sokolova. M.: Izd-vo inostr. lit., 1954. 719 p.
- Salakij C., Salakij J., Chanhome L. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in Monocellate cobra (*Naja kaouthia*), Siamese spitting cobra (*Naja siamensis*) and Golden spitting cobra (*Naja sumatrana*), *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 2002. Vol. 36. P. 291–300.
- Tabachishin V. G. Tabachishina I. E. Dissemination and particularities of ecology of the grass snake (*Natrix natrix*) on the north of the lower Volga region, *Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal*. 2002. No. 2. P. 179–183.
- Vasil'ev D. B. Veterinary Herpetology. M.: Akvarium, 2016. 392 p.