

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского» (ННГУ)

На правах рукописи

Соломайкин Евгений Игоревич

**ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЗМЕЙ К УСЛОВИЯМ
ЕСТЕСТВЕННЫХ БИОТОПОВ И СЕРПЕНТАРИЯ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Романова Елена Борисовна

Нижний Новгород
2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ РЕПТИЛИЙ	12
1.1. Лимфомиелоидные органы и ткани рептилий	12
1.2. Врожденный и адаптивный иммунитет рептилий	15
1.3. Лейкоцитарный состав крови рептилий (морфологическая и функциональная характеристика)	22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	36
2.1. Характеристика районов и объектов исследования	36
2.2. Метод определения лейкоцитарного состава крови рептилий	52
2.3. Статистический анализ экспериментальных данных	53
ГЛАВА 3. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ РОДА <i>VIPERA</i> ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА	54
3.1. Лейкоцитарный состав крови гадюки обыкновенной <i>Vipera berus</i> (Linnaeus, 1758) Самарской области	56
3.2. Лейкоцитарный состав крови восточной степной гадюки <i>Vipera renardi</i> (Christoph, 1861) Саратовской области	63
ГЛАВА 4. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ СЕМЕЙСТВА COLUBRIDAE ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ	72
4.1. Лейкоцитарный состав крови узорчатого полоза (<i>Elaphe dione</i> Pallas, 1773) (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский»	72
4.2. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного (<i>Natrix natrix</i> Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae) из разных популяций	80
4.2.1. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного (<i>Natrix</i> <i>natrix</i> Linnaeus, 1758) из Мордовского государственного природного заповедника им. П. Г. Смидовича, МГЗ (Россия)	80

4.2.2. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного (<i>Natrix natrix</i> Linnaeus, 1758) Северного Прикаспия	89
4.3. Лейкоцитарный состав крови ужа водяного (<i>Natrix tessellata</i> Laurenti, 1768) (Serpentes: Colubridae) Северного и Восточного Прикаспия	94
4.4. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного (<i>Natrix natrix</i> Linnaeus, 1758) и ужа водяного (<i>Natrix tessellata</i> Laurenti, 1768) при синтопии	104
ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЯДОВИТЫХ И НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ В СЕРПЕНТАРИИ	111
5.1. Лейкоцитарный профиль крови ядовитых змей рода <i>Vipera</i> (<i>Vipera berus berus</i> , <i>V. b. nikolskii</i> и <i>V. renardi bashkirovi</i>).....	112
5.2. Лейкоцитарный профиль крови сеголетков неядовитых ужовых змей сем. Colubridae (<i>Elaphe dione</i> , <i>Natrix natrix</i> , <i>Natrix tessellata</i>)	124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	141
ВЫВОДЫ.....	146
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	148

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Изучение закономерностей влияния экологических факторов на организмы и разработка теории формирования адаптации организмов на основе комплексных исследований экофизиологии не вызывают сомнений и являются одной из важнейших проблем экологии. В адаптации к комплексу факторов среды обитания непосредственным образом участвует система крови, как одна из ключевых гомеостатических структур, играющая решающую роль в формировании адаптивных реакций, т.е. приспособлений организма к постоянно изменяющимся условиям среды. Лейкоцитарный профиль крови, как надежный «инструмент», отражающий направленность и выраженность адаптивных реакций, успешно применяется в клинической и ветеринарной практике (Меньшиков и др., 1987; Гаркави и др., 1998; Лебедев, Понякина, 1990), а в последнее время нашел использование и в экологических исследованиях (Вершинин, 2004, 2018; Пескова, 2004, 2005; Davis et al., 2008). В настоящее время относительно хорошо изучены адаптивные стратегии млекопитающих, гораздо менее изучены в этом направлении другие позвоночные, в том числе змеи (Ophidia, Serpentes: Squamata: Reptilia). Вместе с птицами и млекопитающими рептилии формируют группу амниот – первично-наземных высших позвоночных, единственных наземных эктотермных животных, не подвергающихся метаморфозу, с развитыми лимфоидными органами и тканями, что позволяет животным совершенствовать механизмы иммунной защиты и противостоять ксенобиотикам (Галактионов, 2004; Вершинин, 2016; Cooper, 1985; Eliman, 1997; Coico et al., 2003; Metin et al., 2006; Arican, Cicek, 2014 и др.). В процессе адаптации к среде обитания в разные сроки онтогенеза у змей изменяются показатели клеточной и гуморальной защиты, что отражается на морфологическом составе крови (Хамидов и др., 1978; Daszak, 2000; Coico et al., 2003; Kobolkuti, 2012 и др.). Вследствие этого особенно актуален поиск

популяционных маркеров (интегральных лейкоцитарных индексов), позволяющих не только оценить физиологическое состояние организма, его адаптивный потенциал, но и получить характеристики популяционного гомеостаза, обеспечивающего выживание и существование змей, как в природных условиях среды, так и искусственного содержания (Burger et al., 2005; Дробот, 2005; Соколова и др., 1997; Павлов, 1998; Хамидов, 1978).

Возрастает интерес и к изучению систематически близких видов животных, обитающих синтопично, что связано со специфичностью межвидовых отношений (Segurado, Araujo, 2008), особенностями трофических связей и репродуктивного поведения (Jablonski et al., 2017; Hart et al., 2018) и межвидовой гибридизацией (Asztalos et al., 2021). Синтопия заставляет виды приспосабливаться к комплексу специфических экологических условий, используя набор универсальных эффекторных клеток, взаимодействие которых поддерживает гомеостаз организма. Тем не менее, изучение особенностей системы крови синтопических видов, в том числе уховых змей, не проводилось. В настоящее время большинство мест обитания змей находится в условиях повышенной антропогенной нагрузки, что ведет к сокращению численности вида и требует специальных мер их охраны (Бакиев и др., 2004; 2015; Табачишина и др., 2005; Котенко, Курячий, 2009 и др.). Несмотря на обилие литературных данных по экологии и особенностям жизненного цикла змей (Табачишин, Табачишина, 2002; Ручин, Рыжов, 2003, 2006; Табачишина, Табачишин, Завьялов, 2003; Ручин и др., 2005; Чугуевская, 2005; Шляхтин, Табачишин, Завьялов, 2005; Табачишин и др., 2007; Бакиев и др., 2009; Завьялов и др., 2009; Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011; Гордеев, 2012; Помазенко, Табачишин, 2014; Клемина, Бакиев, 2015; Клемина и др., 2015; Шляхтин, Табачишин, Ермохин, 2016 и др.), исследований по изучению системы крови змей при различных воздействиях недостаточно. Между тем, актуальность таких работ заключается в выявлении специфики иммунного реагирования разных видов рептилий в естественной среде, когда темпы антропогенных и климатических

изменений требуют постоянной мобилизации адаптационных резервов организма. Эколого-физиологический подход к исследованию ядовитых животных органично интегрирует в себе специфику биологии и продуцируемых ядов, как химических веществ, участвующих в межвидовых (аллелохимических) взаимодействиях (Гелашвили и др., 2015). Логично полагать, что адаптивные стратегии ядовитых и неядовитых змей к постоянно изменяющимся условиям естественных биотопов и в неволе будут различаться.

В этой связи, актуальность и дальнейшие перспективы изучения адаптивных реакций системы крови организма змей не вызывают сомнений и необходимы как для теории, так и для решения практических природоохранных вопросов в области экофизиологии отдельных видов. В частности, мы считаем целесообразным исследовать модулирующее воздействие комплекса биотических и абиотических факторов среды на иммунные реакции рептилий в трех базовых моделях: токсинологической, пространственной и средового стресса.

С учетом вышеизложенного **целью работы** является сравнительный анализ направленности адаптивных реакций ядовитых (гадюковых рода *Vipera*) и неядовитых (ужовых сем. Colubridae) змей в разных биотопических условиях ареала и средового стресса в серпентарии, оцениваемых по показателям лейкоцитарного профиля крови особей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Установить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови ядовитых змей рода *Vipera* из природных популяций (гадюка обыкновенная, гадюка восточная степная) Волжского бассейна.

2. Оценить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови неядовитых змей сем. Colubridae из природных популяций (уж водяной, уж обыкновенный, полоз узорчатый) Волго–Уральского бассейна и Прикаспия.

3. Провести сравнительный анализ адаптивных реакций и лейкоцитарных показателей крови ужей водяного и обыкновенного Северного Прикаспия в условиях синтопического обитания.

4. Определить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови сеголетков ядовитых змей рода *Vipera* (гадюка обыкновенная, гадюка Никольского), родившихся в неволе.

5. Оценить характер адаптивных реакций и лейкоцитарные показатели крови неядовитых змей сем. Colubridae, родившихся в неволе.

Научная новизна и теоретическая значимость исследования. В работе на трех базовых моделях (токсикологической, пространственной, средового стресса) впервые проведена сравнительная экофизиологическая оценка состояния иммунной системы ядовитых змей рода *Vipera* и неядовитых змей родов *Natrix* и *Elaphe*, обитающих в естественных условиях и в неволе, включающая определение лейкоцитарной формулы крови с расчетом связанных с ней лейкоцитарных индексов (сдвига лейкоцитов, соотношения лимфоцитов/эозинофилов, гетерофилов/эозинофилов, гетерофилов/лимфоцитов и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс). Впервые показаны адаптивные модификации иммунного гомеостаза сеголетков змей, заключающиеся в разнонаправленных изменениях количественного содержания гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых ужовых змей и снижении – в крови ядовитых гадюковых змей, содержащихся в условиях неволи. Выявлена онтогенетическая специфика адаптивных реакций организма неядовитых ужовых змей, заключающаяся в смещении лейкоцитарного профиля крови у сеголетков в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет место выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов, определяющаяся спецификой абиотических условий разных локалитетов. Впервые показана общность экофизиологических реакций гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) в условиях

синтопического обитания, межвидовые различия затрагивают мононуклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются в повышенном содержании азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

Предложенные в работе популяционные маркеры (интегральные лейкоцитарные индексы) информативны и позволяют оценить адаптивный потенциал организма на разных уровнях иммунного ответа в разные периоды онтогенетической активности особей.

Практическая значимость работы. В работе получил дальнейшее развитие комплексный подход к аутоэкологической оценке иммунного статуса природных популяций герпетофауны (в пределах класса пресмыкающихся на трех базовых моделях: токсикологической, пространственной и средового стресса). Выявлено адаптивное значение иммуногематологических показателей, проявляющееся в изменении соотношения гранулоцитарных и агранулоцитарных клеточных форм представителей ядовитых и неядовитых змей. Получены характеристики популяционного гомеостаза, обеспечивающего выживание и существование змей, как в природных условиях среды, так и при искусственном содержании. Выявлены межполовые и межвидовые различия лейкоцитарного состава крови, связанные как с популяционно-генетическими особенностями, так и со спецификой среды обитания, накладывающей отпечаток на физиологическое состояние рептилий. Применение иммуногематологического подхода позволяет вплотную подойти к решению важнейших задач экофизиологии (факториальной экологии), связанных с выяснением механизмов адаптации живых организмов к антропогенно-измененным условиям среды. Изменение динамики лейкоцитарных индексов позволяет выявить наличие патологических процессов при проведении мероприятий по сохранению и искусственному разведению редких и исчезающих видов рептилий.

Соответствие паспорту научной специальности. Результаты проведенного исследования соответствуют шифру специальности 1.5.15.

Экология (биологические науки, области исследования – Экофизиология (факториальная экология).

Положения, выносимые на защиту:

1. Ответ системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов естественной среды обитания реализуется за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов, обеспечивающих сильные неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции.

2. У неядовитых ужовых змей (сем. Colubridae) формирование общей адаптационной реакции обуславливается изменением баланса форменных элементов белой крови и определяется стадией онтогенеза змей: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов.

3. В условиях синтопического обитания у гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) наблюдаются общие адаптивные реакции системы крови; при этом межвидовые различия затрагивают мононуклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются в повышенном содержании азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

4. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей, родившихся в серпентарии неспецифические адаптивные реакции иммунной системы реализовались, в том числе, за счет разнонаправленных изменений в количественном содержании гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых ужовых змей и снижении – в крови ядовитых гадюковых змей.

Личный вклад автора. Автор принимал личное участие в постановке задач исследования, сборе материала, проведении лабораторной и статистической обработки, а также обсуждении и теоретическом осмыслении

полученных результатов. Доля личного участия автора в сборе материала, написании и подготовке публикаций составляет 60 – 95%.

Апробация результатов. Основные результаты работы были доложены и представлены на научно-практических конференциях: 19-ой Международной Пущинской школе – конференция «Биология – наука XXI века» (Пущино, 20–24 апреля, 2015); 68-ой областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 28–29 апреля, 2015); 69-ой областной научной конференции студентов и аспирантов «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 27–29 апреля, 2016); 71-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 17–20 апреля, 2018 г.), 22-ой Международной Пущинской школе – конференции «Биология – наука XXI века» (Пущино, 23–27 апреля, 2018 г.); 23-ей сессии молодых ученых (Н. Новгород, 22–23 мая, 2018); 2-ой международной конференции молодых ученых по биоразнообразию и экологическим проблемам сохранения дикой природы (Цахкадзор, Армения, 5–7 окт. 2018); 73-ей Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 28-30 октября, 2020); 74-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 20–23 апреля 2021 г.); 75-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 19 научных работ, из которых – 8, входящих в Перечень ВАК РФ и международные реферативные базы данных и системы цитирования, 10 – статей и тезисов в материалах международных и российских конференций; 1 – учебное пособие.

Структура и объём работы. Решение поставленных задач определило структуру диссертационной работы, состоящую из введения, 5 глав, заключения, выводов. Диссертация изложена на 170 страницах. Работа иллюстрирована 35 таблицами и 46 рисунками. Список использованной литературы включает 204 источника, в том числе 128 иностранных авторов.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и благодарность научному руководителю д.б.н., доценту, профессору Е.Б. Романовой за разработку темы исследования, поддержку и помощь, оказанную на всех этапах работы. Автор выражает большое уважение и сердечную благодарность: к.б.н., доценту Бакиеву А.Г., к.б.н. Горелову Р.А. за помощь при сборе материала и ценные консультации. Автор признателен за внимание к работе и квалифицированные советы д.б.н., профессору Д.Б. Гелашвили, за консультации при математической обработке данных д.б.н. В.Н. Якимову. Автор выражает слова благодарности соавторам, коллегам, коллективу ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского и Института экологии Волжского бассейна РАН за помощь и участие в выполнении работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ РЕПТИЛИЙ

Несмотря на большое количество работ, направленных на изучение морфологических (Ручин, Рыжов, 2003, 2006; Табачишин и др., 2007; Помазенко, Табачишин, 2014; Кленина, Бакиев, 2015; Кленина и др., 2015;), экологических особенностей (Табачишин, Табачишина, 2002; Табачишина, Табачишин, Завьялов, 2003; Ручин и др., 2005; Чугуевская, 2005; Шляхтин, Табачишин, Завьялов, 2005; Бакиев и др., 2009; Завьялов и др., 2009; Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011; Гордеев, 2012; Шляхтин, Табачишин, Ермохин, 2016 и др.) и филогенеза рептилий (Asztalos et al., 2021), вопросы оценки иммунного статуса рептилий под воздействием антропогенного пресса в разных биотопических условиях среды остаются малоизученными и особенно актуален поиск генетических (Waits et al., 2019) и популяционных маркеров, позволяющих отслеживать направленность адаптивных реакций организма при длительных наблюдениях и оценивать работу эффекторных механизмов иммунной системы, обеспечивающих важнейших гомеостатические функции организма.

В настоящей главе представлена сводка современных литературных сведений отечественных и зарубежных исследователей, посвященных изучению процессов формирования стратегий иммунной защиты рептилий к совокупности чужеродных агентов инфекционной и неинфекционной природы, поступающих в организм из окружающей среды и аспектам морфологии и дифференциации лейкоцитарных клеток.

1.1. Лимфомиелоидные органы и ткани рептилий

Важнейшая физиологическая функция иммунитета заключается в поддержании динамического равновесия внутренней среды организма, защите от паразитов и чужеродных агентов (ксенобиотиков) как в условиях близких к физиологическим, так и при различного рода вредных внешних

воздействиях. Поэтому оценка иммунного ответа является чувствительным маркером для оценки состояния организма и косвенно свидетельствует о качестве среды обитания. Организация иммунной системы рептилий имеет много общего, с одной стороны с кровью рыб и амфибий, с другой – птиц и млекопитающих (Cooper, 1985; Eliman, 1997; Metin et al., 2006).

Лимфоидную и кроветворную систему рептилий объединяют в единый лимфомиелоидный комплекс, включающий хорошо организованную вилочковую железу (тимус), селезенку, лимфоидную ткань кишечника, лимфоидные агрегаты в клоаке и костный мозг (Галактионов, 2004; Kvell et al., 2007). В центральных органах иммунной системы рептилий (костном мозге и тимусе) происходит формирование и созревание иммуноцитов. Костный мозг рептилий является основным источником стволовых элементов кроветворения (Zapata et al., 1981в). Как и у млекопитающих, тимус рептилий является местом созревания Т-клеток (Jurd, 1994). Начинает развиваться на самых ранних этапах онтогенеза (Lu Yuuan, Li Pipeng, 2001). Подобно тимусу рыб, амфибий и птиц, он происходит из энтодермы; зачатки тимуса представляют собой дорсальные выросты стенки глотки. (Cooper, 1976). У ящериц, змей и черепах тимус развивается из различных пар глоточных карманов. Так, у ящериц данный орган берет свое начало от второго и третьего; у змей – от четвертого и пятого; у черепах – от третьего и четвертого глоточных карманов. У взрослых животных в зависимости от принадлежности к одному из четырех отрядов рептилий наблюдаются анатомические вариации тимуса как по локализации, так и по числу сформированных долей. Например, у гаттерии и большинства ящериц имеются две нерасчлененные доли с каждой стороны шеи. Отдельно взятая доля состоит из коры и медуллы и не подразделяется на дольки. Тимус крокодила представлен вытянутыми четкообразными структурами, которые начинаются у основания черепа, проходят по всей длине шеи и заканчиваются в области сердца. Подобная анатомия тимуса крокодила напоминает морфологию тимуса птиц. Наиболее структурирован тимус у

черепях. Он представлен одной долей с каждой стороны шеи в районе раздвоения сонной артерии. Отдельно взятая доля, в свою очередь, подразделяется, на более мелкие дольки с собственной корой и медуллой (Галактионов, 2004). Кора тимуса представлена плотно упакованными малыми лимфоцитами, которые окружены тонкой сетью звездчатообразных эпителиальных клеток. В медуллярной зоне преимущественными клетками являются слабоокрашиваемые эпителиоциты. Количество лимфоцитов в медулле относительно невелико. Дополнительными клетками этой зоны выступают макрофаги, эозинофилы, моноциты (Lu Yuyan, Li Pipeng, 2001) и миоидные клетки, располагающиеся в мозговом веществе как самостоятельный тип клеток (Cooper, 1976).

Тимус рептилий подвержен возрастной и сезонной инволюции, выражающейся в нивелировке различий между корой и медуллой, и замещением лимфоидной массы органа соединительной тканью (Hussein et al., 1978; Hussein et al., 1979; El Ridi et al., 1981). Морфологически тимус наиболее выражен осенью, в зимний период наблюдается его инволюция, с последующей реконструкцией в весенний период (Kruman, 1992). Тимэктомия и антилимфоцитарная сыворотка значительно снижают ответ к тимусзависимым антигенам. Это подавление коррелирует с истощением Т-зон в селезенке (Галактионов, 2004). В периферических органах иммунной системы (селезенке, скоплении лимфоидной ткани, лимфоузлах) происходит пролиферация и дифференцировка зрелых лимфоцитов, продуцируются антитела и эффекторные лимфоциты. Селезенка рептилий имеет дольчатое строение (Купер, 1980) характеризуется наличием гистологически различающихся участков: красной и белой пульпы (Zapata et al., 1981a; Kroese, Van Rooijen, 1982). Зародышевые центры в селезенке не образуются, однако спленэктомия полностью или частично подавляет гуморальный ответ (Kanakambika, Muthukkaruppan, 1972a; Hussein et al., 1979a). Лимфатические узлы рептилий не имеют фолликул или центров размножения (Borysenko, Cijhtr, 1972; Cooper, 1972; Zapata et al., 1992). Сезонные изменения в

лимфоидных органах рептилий, контролируются нейроэндокринной системой (El Ridi et al., 1988; Kruman, 1992; Lynch et al., 2009).

1.2. Врожденный и адаптивный иммунитет рептилий

Врожденный иммунитет. Естественные факторы неспецифической резистентности организма (врожденный иммунитет) включают систему предсуществующих молекул и клеток, которые присущи данному виду, как наследственно обусловленное свойство (Галактионов, 2004). Мощная защита против инфекций у рептилий представлена антимикробными пептидами. В первую очередь, лизоцимами – гидролитическими ферментами, разрушающими пептидогликановый слой клеточной стенки бактерий. Лизоцимы обнаружены у ящериц и некоторых видов черепах (Gayen et al., 1977; Ingram, Molyneus, 1983; Araki et al., 1998; Thammasirirak et al., 2006). Выделены у рептилий и дефензимы – антимикробные белки, похожие по структуре и функции, на катионные пептиды иммунной системы млекопитающих, активные в отношении бактерий, грибов и многих оболочечных и безоболочечных вирусов. Дефензимы состоят из 18-45 аминокислот, в том числе шести цистеиновых эволюционно консервативных остатков (Ganz, 2003). Установлено, что β -дефензины морских черепах (*Caretta Caretta*) активны против *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, а также проявляют противовирусную активность в отношении *Chandipura virus* (Chattopadhyay et al., 2006). Впервые из лейкоцитов европейской болотной черепахи (*Emys orbicularis*) выделен β -дефензин, известный как пептид TBD-1, обладающий широким спектром антимикробной активности (Stegemann, 2009). Относительно недавно в яичной скорлупе пресноводной дальневосточной черепахи обнаружен антимикробный белок пеловатерин (Lakshminarayanan et al., 2008). В отличие от β -дефензинов млекопитающих, пеловатерин является анионным гидрофобным белком с ограниченным спектром антимикробной активности. Другим семейством антимикробных

пептидов являются кателицидины – катионные амфипатические пептиды разнообразной линейной, α -спиральной или β -шпилькообразной структуры, выявленные у миксин, костистых рыб, птиц, млекопитающих (Tomasinsig, Zanetti, 2005) и ядовитой змеи сем. Аспидовых *Bungarus fasciatus* (Wang et al., 2008). Небольшой катионный белок с высокой антибактериальной активностью идентифицирован у сиамского крокодила (*Crocodylus siamensis*) (Preecharram et al., 2008).

Другим ключевым компонентом врожденного иммунитета является система комплемента – группа сывороточных белков, которые циркулируют в плазме крови и вызывают гибель бактерий в результате лизиса или опсонизации. Активация компонентов комплемента осуществляется классическим путём (с участием антител–иммуноглобулинов) или альтернативным (без участия антител) (Seelen et al., 2005). Отметим, что система комплемента американского аллигатора (*Alligator mississippiensis*) более эффективна в отношении нескольких штаммов грамположительных бактерий по сравнению с сывороткой крови человека (Merchant et al., 2003), а также против штамма вируса иммунодефицита типа 1 (ВИЧ-1), вируса лихорадки Западного Нила и вируса простого герпеса (Merchant et al., 2005).

Клеточные механизмы неспецифической резистентности у рептилий представлены набор лейкоцитов: моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами (Davis et al., 2008). Моноциты и макрофаги являются фагоцитами, которые обрабатывают и представляют антигены, а также высвобождают цитокины – гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий (Coico et al., 2003; Davis et al., 2004 Arican, Cicek, 2010), предназначение которых заключается в формировании очага воспаления. Фагоцитарная активность этих клеток существенно зависит от температуры (Mondal, Rai, 2001). Гетерофилы участвуют в воспалительной реакции и подавляют вторжение микробов (Montali, 1988; Hawkey et al., 1989; Jain, 1993). На мембране базофилов содержатся антиген-специфические рецепторы, активация которых приводит к дегрануляции клетки и выбросу

гистамина. Процесс зависит от концентрации антигена и температуры (Sypek et al., 1984). Эозинофилы играют важную роль в защите от паразитарных инфекций (Coico et al., 2003), развитии воспалительных реакций (Jain, 1993) и обеспечивают защиту змей от паразитов (Kiesecker, 2002).

Одной из функций врожденного иммунитета является формирование воспалительной реакции в ответ на поступление в организм антигена. Внеклеточные патогены провоцируют образование гетерофильной гранулемы с накоплением в очаге воспаления гетерофилов. Затем происходит дегрануляция гетерофилов и развитие некроза, что стимулирует реакцию макрофагов (Montali, 1988). В ответ на внутриклеточные патогены, у рептилий образуются гистиоцитарные гранулемы с участием макрофагов, которые активно продуцируют цитокины и хемокины. Информация о функциональной активности цитокинов рептилий крайне ограничена. Так, у черепах (*Testudo graeca*) обнаружена способность синтезировать интерфероны гепатоцитами, перитонеальными макрофагами (Galabov, Velichkova, 1975) и клетками миокарда (Mathews, Vorndam, 1982). Есть сведения об идентификации хемокина, гомолога интерлейкина-8 (IL-8), в панцире мягкотелой трехкоготной черепахи (*T. sinensis*) (Zhou et al., 2009); интерлейкина-2 в тимоцитах диадемового полоза (*Spalerosophis diadema*) (El Ridi et al., 1986, 1987).

Интенсивность развития у рептилий воспалительной реакции определяется оптимальной для вида температурой окружающей среды, ниже и выше которой эффективность формирования реакции снижается (Kluger et al., 1975; Merchant et al., 2007). Повышение собственной температуры тела при воспалении зависит и от дозы поступающего пирогена. Введение черепахам (*Terrapene Carolina*) высокой дозы липополисахарида (0,025 мг/г) приводило к значительному повышению температуры тела, тогда как низкая доза (0,0025 мг/г), напротив, снижала температуру тела по сравнению с контрольной группой (Amaral et al., 2002). Эти исследования показывают, сложный характер взаимосвязи активации неспецифических факторов

резистентности рептилий, как эктотермных животных, с абиотическими условиями среды обитания.

Адаптивный (приобретенный) иммунитет. Под адаптивным (приобретенным) иммунным ответом понимают специфический по отношению к антигену ответ, осуществляемый клонами иммунокомпетентных клеток, имеющих соответствующие антигенраспознающие рецепторы (Галактионов, 2004). В развитии адаптивного иммунного ответа принимают участие три основных клеточных типа: Т-лимфоциты, В-лимфоциты и антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки, клетки памяти). Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов.

Клеточные реакции. Т-лимфоциты являются основными участниками клеточной формы иммунного реагирования, разрушают чужеродные клетки при непосредственном контакте с ними (Галактионов, 2004). Т-клетки обнаружены у представителей всех отрядов рептилий: змей, ящериц, черепах и гаттерии (Burnham et al., 2005). О морфофункциональной зрелости Т-клеток рептилий судят по способности развивать полноценный иммунный ответ в смешанной культуре лимфоцитов. У рептилий пролиферация Т-клеток имеет выраженный сезонный характер. Так, лимфоциты обыкновенной песчаной змеи (*Psammophis sibilans*) характеризуются высокой пролиферативной способностью в течение весны и осени (Farag, El Ridi, 1984). Аналогичная динамика наблюдается на Т-клеточной митоген конковалина А (Кон А) у диадемовой змеи (*S. diadema*) (El Ridi et al., 1987). Проллиферация лимфоцитов у каспийской черепахи (*Mauremys caspica*) в ответ на Кон А и фитогемагглютинин (РНА) более выражена весной (Munor, De la Fuente, 2001). При этом половых различий в интенсивности клеточно-опосредованных реакций у черепах не обнаружено (Munor, De la Fuente, 2001; Keller et al., 2005). Напротив, половые различия в пролиферации лимфоцитов были обнаружены у песчаных змей. Установлена более интенсивная пролиферация в ответ на Кон А и РНА у самок, по сравнению с

самцами, и у не беременных самки, по сравнению с беременными (Saad, 1989). Реакция бласттрансформации Т-лимфоцитов у средиземноморских ящериц: *Psammodromus algirus*, *Acanthodaetylus erythrurus*, протекает аналогично реакции у млекопитающих (Munoz et al., 2009), экспериментальное повышение уровня тестостерона приводит к снижению ответа на митоген (Berger et al., 2005). Отличительной особенностью рептилий является менее эффективное отторжение аллотрансплантата, чем у амфибий. У представителей всех трёх отрядов (крокодилы, черепахи, чешуйчатые) отторжение первичного аллотрансплантата проходит по хроническому типу (Afifi et al., 1993). Это свидетельствует о слабой выраженностью индивидуальных различий по антигенам гистосовместимости (Farag, El Ridi, 1990). Однако возможно и другое объяснение, связанное с представлением о низком уровне экспрессии основных антигенов гистосовместимости на трансплантируемом материале. В целом в типе позвоночных сохраняется общая тенденция на усиление трансплантационного реагирования от круглоротых к млекопитающим, при этом внутри отдельных классов выраженность реакции отторжения у представителей разных таксономических подразделений неоднозначна (Галактионов, 2005).

Гуморальные реакции. Гуморальные иммунные ответы (посредством В-лимфоцитов) у рептилий осуществляются по сравнению с млекопитающими медленнее (Zimmerman et al., 2010). Подобно В-клеткам других амниот В-клетки красноухой черепахи (*Trachemys scripta*) обладают и фагоцитарной способностью (Zimmerman et al., 2009). Наиболее активным органом в продукции антител, у рептилий является селезенка, где содержится около 50% В-клеток. В периферической крови обнаружено 25% В-клеток; в костном мозге – 20%; в тимусе – 1%. В раннем онтогенезе дифференцировка В-клеток осуществляется в печени (Галактионов, 2004).

У млекопитающих известно пять классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD), рептилии производят не менее двух классов: IgM и IgY

(Natarajan и Muthukkaruppan, 1985). Принадлежность иммуноглобулинов к тому или иному классу зависит от характерных особенностей строения константной области тяжелой цепи. Эволюционная преемственность с млекопитающими установлена только для IgM. IgM синтезируется первым в ответ на инфекцию и состоит из пяти мономеров, каждый из которых включает две тяжелые цепи (μ -цепи) и две легкие цепи (κ - или λ -типов). В отличие от IgM, IgY передается от матери к эмбриону, имеет длительный период полураспада, производится в большем количестве (Warr et al., 1995). Гены тяжелой цепи иммуноглобулинов содержат высокий уровень генетического разнообразия и расположены в виде единого локуса с множеством генов варибельной области в структуре молекулы (Turchin, Hsu, 1996), поэтому рептилии характеризуются гетерогенностью по иммуноглобулинам. У гаттерии есть иммуноглобулины M с коэффициентами седиментации 19S и 7S. Тяжелая цепь 7S-белка отличается от строения аналогичных цепей двоякодышащих рыб. Иммуноглобулины черепах сходны с иммуноглобулинами двоякодышащей рыбы целым рядом свойств. Черепахи располагают иммуноглобулинами двух типов соответствующих иммуноглобулинам млекопитающих (Crex, 1963). Кое (Coe, 1972) предположил, что у расписной черепахи *Chrysemus picta* существует необычайно сложная система IgY, включающая четыре типа сывороточных белков. У суповой зеленой черепахи *Chelonia mydas* (Benedict, Pollard, 1972) и у красноухой черепахи *Pseudemys scripta* (Leslie, Clem, 1972) выделено три класса иммуноглобулинов. От черепах, иммунизированных динитрофенилированным бычьим γ -глобулином (Leslie, Clem, 1972), были выделены иммуноглобулины трех различных типов, способные связываться с динитрофенолом, с коэффициентами седиментации: $\sim 17S$, $7,5S$ и $5,7S$ и молекулярной массой: 850000, 180000, 120000, соответственно (Leslie, Clem, 1972; Wei et al., 2009). У пятнистого леопардового геккона (*Eublepharis macularius*) обнаружены IgA-подобные иммуноглобулины. Полагают, что такой тип антител у рептилий мог возникнуть в результате рекомбинации

между IgM и IgY (Deza et al., 2007). Ключевым компонентом секреторных иммуноглобулинов является присоединяющаяся J-цепь, связывающая момеры IgM и IgA. J-цепь иммуноглобулина красноухой черепахи *Pseudamys scripta* была секвенирована и экспрессируется в легких, желудке, селезенке и кишечнике (Iwata et al., 2002). Рептилии также может производить иммуноглобулин IgD. Функция IgD не полностью понятна, известно, что он экспрессируется на поверхности зрелых В-клеток вместе с IgM, и принимает участие в развитии В-клеток (Geisberger et al., 2006). У леопардового геккона (*E. macularius*) были секвенированы два гена иммуноглобулина D: IgD и IgD2 (Deza, Espinel, 2008). IgD и IgM выделены в одинаковых количествах из тканей желудка, кишечника, клоаки, печени, почек, легких, селезенки и клеток крови геккона. IgD2 обнаружен в этих тканях на более низком уровне (Deza, Espinel, 2008). Ген IgD был обнаружен и у игуанообразных ящериц – анолисов (Wei et al., 2009). Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять функции этих недавно идентифицированных иммуноглобулинов и подтвердить их присутствие у других рептилий. Переключение внутриклеточного синтеза иммуноглобулинов с одного изотипа на другой и селекция клонов по признаку наибольшего сродства к антигену у рептилий характеризуется длительным ответом IgM, прежде чем произойдет переключение на производство IgY (Grey, 1963; Turchin, Hsu, 1996). У рептилий отмечено и изменение расположения генов иммуноглобулинов в геноме клеток в процессе митоза (соматическая рекомбинация), включающая перегруппировку и слияние генов в одном локусе (Turchin, Hsu, 1996).

После иммунизации антигеном, антитела могут быть обнаружены в плазме крови в течение шести – восьми недель (Grey, 1963; Marchalonis et al., 1969; Ingram, Molyneux, 1983; Work et al., 2000; Pye et al., 2001; Origgi et al., 2001). При повторном воздействии антигена сокращается период выработки антител (Work et al., 2000; Coico et al., 2003; Ujvari, Madsen, 2006; Snoeijs et al., 2007). Однако, в отличие от млекопитающих, не происходит увеличения

титра антител (Zimmerman et al., 2010) и вновь синтезируются первичные IgM (Coico et al., 2003; Zimmerman et al., 2010).

1.3. Лейкоцитарный состав крови рептилий (морфологическая и функциональная характеристика)

Кровь – наиболее дифференцированная и реактивная соединительная ткань, являясь внутренней средой организма, представляет собой совокупность специализированных клеток и обеспечивает выполнение важнейших физиологических функций. У рептилий доля периферической крови составляет приблизительно 5–7% от массы тела (Павлов, Юсупов, 2015). С наличием в крови белых кровяных телец (лейкоцитов) связана специфическая (адаптивный иммунитет), неспецифическая (в первую очередь, фагоцитоз) защита организма, уровень стрессового воздействия (Kruman, 1992; Moore et al., 2003; Allender et al., 2006; Davis et al., 2008; Davis et al., 2011). Измерение количественного соотношения лейкоцитарных клеток в крови животных позволяет не только оценить физиологическое состояние организма, но и его адаптивный потенциал (Хамидов и др., 1978; Coico et al., 2003; Moore et al., 2003; Arican, Cicek, 2014), а также получить сравнительные гематологические характеристики популяций рептилий в условиях антропогенного стресса.

У всех рептилий эритроциты имеют овальную форму и обычно одно ядро. Их богатая гемоглобином цитоплазма окрашивается по Романовскому в различные оттенки желтого или кирпичного цвета у ящериц и змей, а у черепах и крокодилов может быть зеленоватой или голубоватой. В отличие от эритроцитов млекопитающих, имеющих двояко вогнутую форму, эритроциты рептилий сплющены, и в области ядра их форма слегка выпуклая. Вариабельность эритроцитов у рептилий более выражена, чем у других позвоночных (Соколина и др., 1997; Павлов, 2019; Mader, 2000; Dickinson et al., 2006; Tok et al., 2006). У ящериц размеры эритроцитов наиболее мелкие среди всех рептилий и в среднем составляют 14–18 x 8–10

мкм (у зеленой игуаны – 15,3 х 7,8 мкм). Количество эритроцитов негативно коррелирует с их размерами, поэтому у ящериц их количество максимальное – у большинства видов более 1 млн/мкл, иногда до 2 млн. Норма для зеленых игуан составляет 0,8–2 млн/мкл. Иногда встречаются безъядерные эритроциты, и в этом случае их именуют «эритропластидами». Можно также наблюдать и свободные эритроцитарные ядра, которые называются «гематогонами» (Васильев, 2016; Troiano et al., 2000; Tosunoglu et al., 2004; Tok et al., 2006).

Тромбоциты – клетки, значение которых в крови рептилий соответствует основным функциям кровяных пластинок млекопитающих. В отличие от последних, представителями тромбоцитарного ряда крови рептилий являются целостные ядерные клетки (Лобода, 1998; Воробьева, 2007; Хайрутдинов, Соколоина, 2010; Alleman et al., 1992; Dickinson et al., 2006; Metin et al., 2006). У всех рептилий, за исключением гаттерий, тромбоциты представляют собой сравнительно мелкие, размером 8–16 х 5–9 мкм, ядерные клетки овальной или веретеновидной формы со слабо базофильной, почти прозрачной цитоплазмой и центрально расположенным ядром. Ядра тромбоцитов содержат уплотненный хроматин, что делает их более базофильными по сравнению с ядрами похожих на них мелких лимфоцитов. Эти клетки имеют тенденцию к адгезии, и даже в быстро приготовленных мазках часто образуют агрегаты (Dickinson et al., 2006). На электронных микрофотографиях тромбоцитов видны тонкие псевдоподии, содержащие нежный гранулированный материал. Тромбоциты образуются из мегакариоцитоподобных многоядерных клеток в костном мозге и органах экстрамедуллярного гемопоэза рептилий. Эти клетки, так же как и взрослые тромбоциты, сохраняют способность к фагоцитозу (Frye, 1991; Perpignan et al., 2006; Claver, Quaglia, 2009; Zimmerman et al., 2010).

Количественная оценка (%) основных видов лейкоцитарных клеток (формула крови, или лейкограмма) основана на распознавании образа клеток за счет различия их внешнего вида. Классификация лейкоцитов рептилий

затруднена: частично за счет variability строения клеток у разных видов, частично из-за присутствия большого количества незрелых форм, а также из-за отсутствия единой номенклатуры в литературе и проведения исследование клеточного состава крови различными, несогласованными методиками (Соколина и др., 1997). Существует значительное межвидовое изменение параметров лейкоцитов и морфологических характеристик белых кровяных клеток среди видов рептилий, даже в пределах Squamata (Bounous et al., 1996; Salakij et al., 2002; Claver, Quaglia, 2009). На обилие и морфологию клеток крови могут влиять здоровье, возраст, пол, репродуктивный статус, сезон и условия окружающей среды (Tosunoglu et al., 2011). В целом, лейкоциты рептилий можно разделить на две большие группы: гранулоциты и мононуклеары, то есть имеющие сегментированное и несегментированное ядро клетки. Гранулоциты разделяют на две группы по цвету цитоплазмы в мазках крови по Романовскому – Гимзе: ацидофилы (розовый) и базофилы (фиолетовый). Ацидофилы, в свою очередь, делятся на гетерофилы и эозинофилы, отличающиеся друг от друга формой и цветом гранул (рис. 1.1).



Рисунок 1.1. Классификация клеток лейкоцитарного ряда клеток рептилий (по: Coico et al., 2003; Arican, Cicek, 2010; Zimmerman et al., 2010; Лисничая, Ефимов, 2014 и др.)

При характеристике форменных элементов крови рептилий возникают не только сложности в связи с морфологическими различиями у разных видов, но и некоторая путаница с базовой терминологией. Циркулирующие

мононуклеары – лимфоциты и моноциты, очень похожи у всех позвоночных животных, а вот среди линий гранулоцитов имеются существенные различия и гетерогенность (Акуленко, 2014; Saad, 1989; Bell, Gregory, 2014).

Гетерофилы – это крупные (10–23 мкм) округлые клетки с бесцветной цитоплазмой, содержащей эозинофильные (оранжевые) палочко- или веретенообразные гранулы, преломляющие свет (Saint Girons, 1970). Края клеток могут быть неровными, в некоторых ситуациях можно даже наблюдать псевдоподии (ложноножки). Ядро зрелого гетерофила располагается эксцентрично, имеет округлую или овальную форму с глыбками концентрированного хроматина (рис. 1.2).

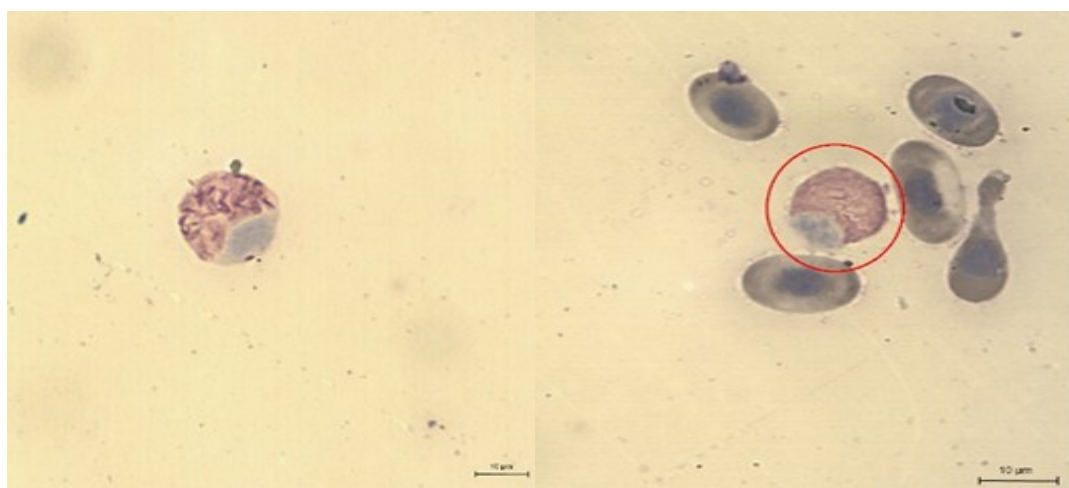


Рисунок 1.2. Гетерофилы гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$).

Цифровое изображение препарата крови выполнено камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (ув. $\times 1500$) автором

Гетерофилы рептилий и птиц, по сравнению с гомологичными им нейтрофилами млекопитающих, имеют более высокую изоэлектрическую точку и окрашиваются эозинофильно (Купер, 1980; Васильев, 2016; Keller et al., 2005). Термин «гетерофил» или «псевдоэозинофил» часто применяют для нейтрофилов кроликов, морских свинок и гистрикоморфных грызунов из-за выраженной эозинофильной окраски их гранул. Гетерофилы этих животных функционально и биохимически эквивалентны нейтрофилам других млекопитающих, а вот у рептилий сходство проявляется только в функции,

так как имеются биохимические различия (Jain, 1993; LeBlanc et al., 2000; Kvell et al., 2007; Tosunoglu et al., 2011). У большинства рептилий, за исключением некоторых ящериц и змей, имеется второй тип гранулоцитов, окрашивающихся ацидофильно. В связи с этим некоторые авторы применяют термин «ацидофил» к обоим типам клеток – и к гетерофилам, и к эозинофилам (Claver, 2009; Arican, Cicek, 2010). Ацидофилы рептилий имеют широкую видоспецифическую вариабельность в размерах, морфологии ядер и гранул. Черепахи и крокодилы имеют 2 типа ацидофилов, которые происходят из единого клеточного ствола и соответствуют нейтрофилам и эозинофилам млекопитающих. Некоторые авторы называют их ацидофилами I и II типа (Oros et al., 2010; Salakij, 2002). Другие авторы считают, что каждый тип клеток происходит от независимых предшественников (эозинофильного и гетерофильного) и называют эти клетки «эозинофил» и «гетерофил» – такая терминология сейчас принимается большинством авторов (Павлов и др., 2015; Claver, Quaglia, 2009; Arican, Cicek, 2010). Для чешуйчатых большинство авторов использует термин «гетерофил» (Tosunoglu et al., 2004; Tok et al., 2006; Zimmerman et al., 2010).

Гетерофилы как и другие гранулоциты это клетки округлой формы. Ядро овальное или округлое, у некоторых видов ящериц – дольчатой формы. Цвет гранул может быть бледно-розовым или оранжево-голубым, цитоплазма – светло – голубой или прозрачной. В некоторых случаях отличительной особенностью гетерофилов от эозинофилов, помимо тинкториальных особенностей, может служить различие в форме гранул: гетерофилы имеют более продолговатые (эллипсоидные) гранулы (Воробьева, 2007; Iwata et al., 2002; Dickinson et al., 2006; Claver, Quaglia, 2009).

В мазках периферической крови черепах и крокодилов, окрашенных по Романовскому или Райту, гетерофилы имеют единственное базофильное ядро, расположенное эксцентрично, и эозинофильные веретеновидные гранулы. У чешуйчатых гетерофилы имеют круглые или сегментированные

ядра и эозинофильные гранулы многоугольной или плеоморфной формы. Размеры гетерофилов ящериц колеблются в пределах 13–17 мкм. В гетерофилах змей ядра обычно одиночные, гранулы плохо сформированы, у ящериц гетерофилы полиморфноядерные, а гранулы веретеновидные, палочковидные или плеоморфные. В молодых гетерофилах ядро обычно овальное, а гранулы имеют округлую форму. Большое количество сегментов не нормально и встречается при токсемии (гиперсегментация). Морфология и количество гранул имеет значительные видоспецифические вариации. У игуан максимальное количество кирпичных палочковидных гранул имеется в зрелых гетерофилах. В молодых клетках количество гранул в 2–3 раза меньше, они сферические и красно-оранжевые. У водяных агам, как и у некоторых других ящериц, зрелые гетерофилы сохраняют «ювенильные» черты и содержат округлые и нерегулярные гранулы. Встречается много клеток, где имеется всего 2–3 таких гранулы (Le Blanc, 2001). Окраска и форма гранул может значительно изменяться при изготовлении мазков. В мазках, окрашенных Diff–Quick и другими модификациями азурэозина, гранулы гетерофилов значительно менее эозинофильны и хуже различимы, чем в модификациях окраски по Романовскому. В срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, гранулы гетерофилов теряют свою специфичность и округляются. Они по-прежнему окрашиваются эозинофильно, но иногда их оттенок становится желто–коричневым или медным, так что их можно спутать с отложениями гемосидерина. Гетерофилы считаются наиболее реактивными лейкоцитами в крови рептилий и обладают высокой фагоцитарной активностью. Иммунологическая функция гетерофилов заключается в реакции на инфекции, воспаление и стресс (Васильев, 2016; Amaral et al., 2002; Berger et al., 2005; Davis, Maerz, 2008).

Эозинофилы – это крупные (11–17 мкм) округлые клетки со светлосиней цитоплазмой, округлым или овальным ядром, расположенным эксцентрично, и большим количеством округлых эозинофильных цитоплазматических гранул (Arıkan, Cicek, 2014) (рис.1.3).



Рисунок 1.3. Эозинофил гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$)

Цифровое изображение препарата крови выполнено камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (ув. $\times 1500$) автором

Цвет гранул варьирует от ярко-розового (в этих же случаях гранулы гетерофилов имеют более тусклый оттенок розового) до голубого (Johnson, 2011). У черепах и крокодилов эозинофилы по размеру (12–17 мкм) сравнимы с гетерофилами. Они имеют овальное или двухлопастное эксцентричное ядро и крупные сферические эозинофильные гранулы. Большинство змей, например, такие распространенные виды, как тигровый и королевский питон или маисовый полоз, не имеют эозинофилов. У тех видов змей, у которых они есть, эозинофилы обычно крупнее, чем у других рептилий, порядка 17–20 мкм. Эозинофилы ящериц, даже у тех видов, у которых они есть, в периферической крови можно встретить очень редко. У зеленых игуан эозинофил несколько крупнее гетерофила, имеет одиночное ядро и крупные овальные гранулы фиолетового цвета (при окраске по Романовскому). Вариации в форме и окраске гранул эозинофилов в целом характерны для всех низших позвоночных и птиц. Эозинофилы играют определенную роль в воспалительных процессах и участвуют в фагоцитозе иммунных комплексов, образующихся в присутствии паразитов (Васильев, 2005; Zhou et al., 2009).

Базофилы (рис. 1.4), лимфоциты (рис. 1.5) и моноциты (рис. 1.6) крови рептилий схожи с таковыми у млекопитающих и птиц.

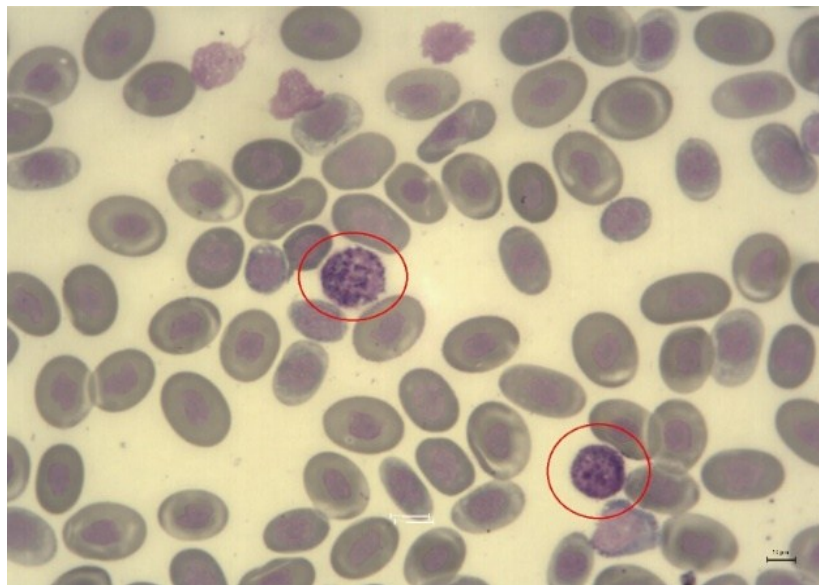


Рисунок 1.4. Базофилы гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$)

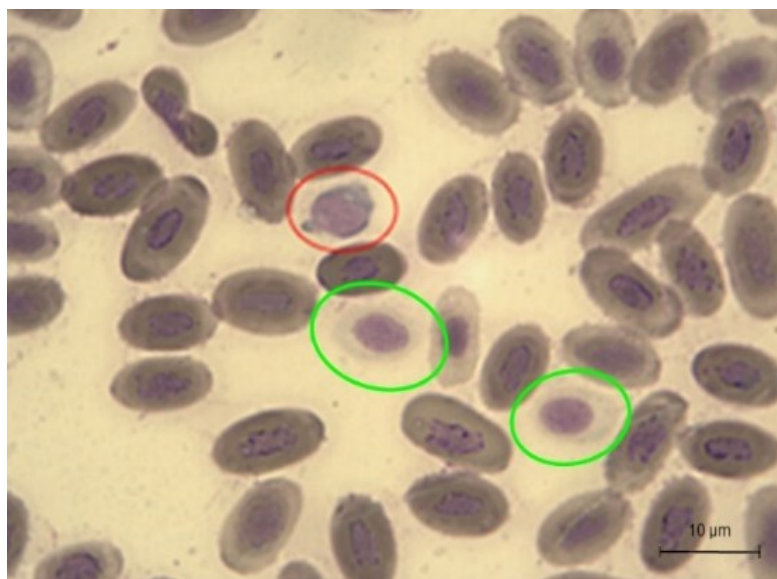


Рисунок 1.5. Лимфоцит (красный цвет) и тромбоциты (зелёный цвет) гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$)

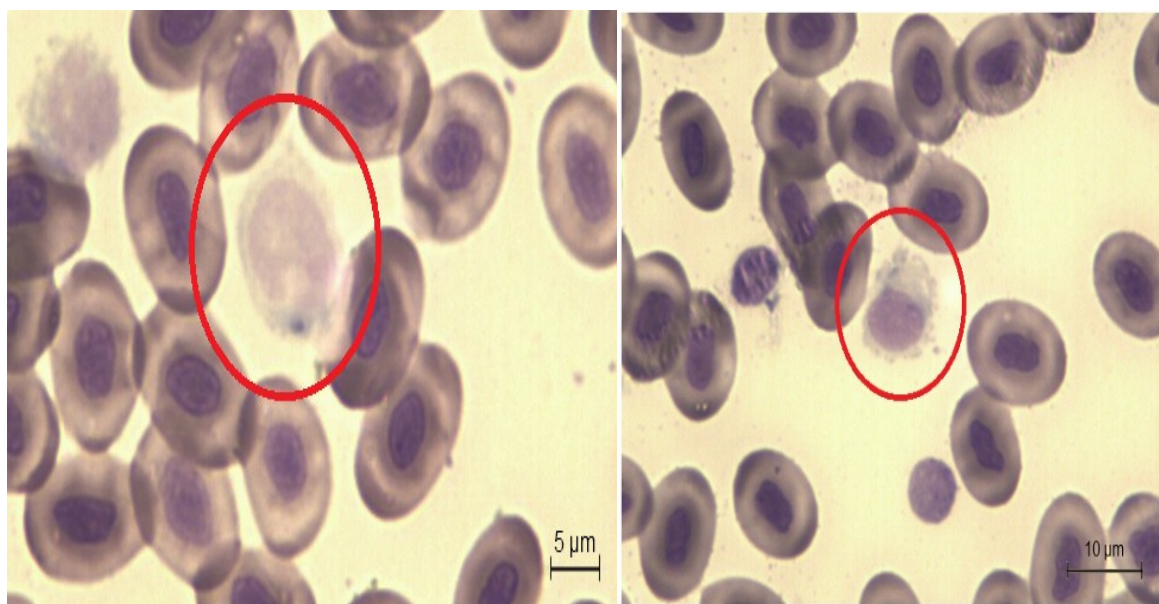


Рисунок 1.6. Моноциты гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$)

Цифровые изображения препарата крови выполнены камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (ув. $\times 1500$) автором

Что касается дифференцировки у рептилий мононуклеарных клеток, то все исследователи выделяют моноциты и лимфоциты. Базофилы имеют округлую форму и меньшие размеры, чем другие гранулоциты. Гранулы цитоплазмы, окрашивающиеся в темно – пурпурный цвет, плотно окружают ядро клетки, так, что оно едва различимо (Лисничая, Ефимов, 2014; Santos et al., 2014). Размеры базофилов у ящериц в среднем составляют 8–12 мкм, у змей и черепах они крупнее – до 13–16 мкм, самые крупные базофилы (до 20 мкм) найдены у гаттерии. Базофилы рептилий часто окрашиваются метакхроматически. Это связано с наличием в них двух типов гранул. Помимо крупных темно-базофильных гранул, в цитоплазме всегда имеются мелкие гранулы, красящиеся азурофильно (Васильев, 2016).

Моноцит – клетка округлой, овальной или неправильной формы. Цитоплазма серо-голубого цвета; фиолетовое ядро овальной формы или «в форме почки» расположено эксцентрично и имеет менее конденсированные скопления хроматина, чем лимфоцит (Bailey et al., 2009; Arican, Cicek, 2010).

Моноциты – самые крупные клетки периферической крови рептилий. Их размер превышает диаметр крупных лимфоцитов и у разных видов

варьирует в пределах 8–20 мкм. Они очень похожи на такие же клетки млекопитающих и имеют светлую, серо–голубую, нежно гранулированную цитоплазму, часто содержащую вакуоли. У всех рептилий моноциты не многочисленны, порядка 0–10% (у большинства видов 0,5–3%). Однако, у некоторых видов змей и ящериц их количество может в норме достигать 10–20% (Васильев, 2016).

Лимфоцит – клетка округлой или овальной формы (могут встречаться неровные очертания клеток). Цитоплазма по мере созревания клетки (от лимфобласта до лимфоцита) становится менее базофильной, ее цвет меняется от синего до светло-голубого, также уменьшается размер цитоплазматического ободка (Лисничая, Ефимов, 2014).

Как и у других позвоночных, в этом классе клеток существует морфологическая и функциональная гетерогенность. У большинства видов рептилий различают 2 типа лимфоцитов – мелкие и крупные, а у некоторых и 3 типа – мелкие, средние и крупные. Мелкие лимфоциты варьируют в размерах от 5,5 до 10 мкм, а крупные – в пределах 11–14 мкм.

В лейкоцитарной формуле все лимфоциты подсчитываются как один тип клеток. Их цитоплазма окрашивается по Романовскому в бледно-голубой цвет и может содержать тонкую азурофильную зернистость или мелкие прозрачные (гиалиновые) включения. При бактериемии в лимфоцитах часто можно встретить фагоцитированные микроорганизмы и фрагменты эритроцитов. Этот уровень, тем не менее, подвержен нормальным возрастным или сезонным вариациям. У молодых рептилий абсолютное количество лимфоцитов может быть слегка повышенным, это же характерно для самок. Количество лимфоцитов повышается в летние месяцы (у тропических видов во влажный сезон) и может резко снижаться во время зимовки. Повышение уровня лимфоцитов в норме происходит во время линьки, особенно у змей (Васильев, 2016; Zhou et al., 2009).

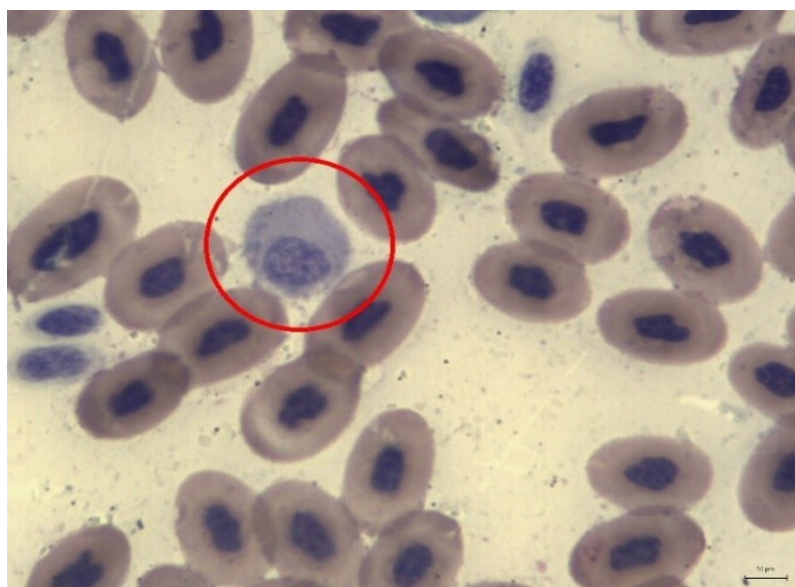


Рисунок 1.7. Азурофил гадюки обыкновенной (увеличение $\times 1500$)

Цифровое изображение препарата крови выполнено камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (ув. $\times 1500$) автором

Кроме того, у чешуйчатых, крокодилов и черепах в отдельный класс мононуклеаров выносят азурофилы (Martinez-Silvestre et al., 2005; Хайрутдинов, Соколина, 2010; Stacy et al., 2011). Азурофилы описаны как клетки нерегулярной формы (Frye, 1991). Ядро у них несегментированное, имеет неправильную округлую, овальную или двудольчатую форму. Хроматин ядра имеет зернистый вид. Цитоплазма базофильная, темнее, чем у моноцитов, окрашивается в интенсивный синий цвет, в ней присутствует небольшое количество матовых азурофильных гранул (Campbell, 2006) (рис. 1.7).

Надо отметить, что существует и альтернативное мнение ряда авторов, полагающих, что моноциты и азурофилы рептилий по сути являются одним типом клеток (Veterinary Hematology..., 2012). Азурофил имеет округлую или овальную форму. Цитоплазма слабо базофильна (серо – голубая) с большим количеством мелких гранул, напоминающих прозрачные вакуоли. Азурофилы встречаются только у змей и ящериц, но далеко не у всех видов. Они вполне обычны у игуан. Эти клетки позитивно окрашиваются на

пероксидазу, щелочную фосфатазу и селективный краситель нейтрофилов млекопитающих – Neutrocolor. (Хайрутдинов, 2008; Lupien et al., 2009).

Резюме. Подводя итог обзору литературы, представляющим собой сводку современных данных о структурно-функциональных блоках иммунной системы рептилий, отметим, что гематологическая составляющая иммунитета отражает любые функциональные изменения организма, происходящие в процессе жизнедеятельности животного. Систематизируя сведения о строении иммунной системы рептилий можно сделать ряд обобщений: во-первых, отметим, что лимфомиелоидный комплекс рептилий достаточно гетерогенен и фактически соответствует лимфоидной системе высокоорганизованных позвоночных животных. Во-вторых, рептилии – эволюционно первая группа животных, у которой начинается расхождение клеток по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям (Cuchens, Clem, 1976; Dabrowski et al., 2007) и зависимость рептилий от внешних условий среды хорошо известна (Cooper, 1976). В-третьих, рептилии – наземные эктотермные животные, и как все позвоночные, 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. Являясь эволюционно более продвинутой группой, по сравнению с амфибиями, рептилии обладают широким спектром адаптивных реакций, сведения о которых на сегодняшний день фрагментарны и мало изучены, между тем, получение иммуногематологических характеристик популяций конкретных видов значительно расширит наши представления о филогенетическом развитии и адаптационных возможностях наземных эктотермных животных. В-четвертых, стратегия иммунной защиты определяется не только онтогенетическими особенностями рептилий, но и

путем поступления, величиной, и длительностью воздействия антигенов (Coico et al., 2003). В ответ на загрязнение среды обитания, иммунные реакции организма, в зависимости от дозы и путей поступления ксенобиотика, могут либо активироваться либо подавляться. Иммунная система рептилий способна реагировать в широком диапазоне температур, но наиболее высокие ответы наблюдаются при определенной, оптимальной для конкретного вида температуре (Mondal, Rai, 2001; Merchant et al., 2003; Merchant, Britton, 2006; Raffel et al., 2006), поэтому исследование иммунных реакций требует учета временных и климатических факторов. В связи с этим мощным научным потенциалом обладает экологическая иммуотоксикология – область исследования модулирующего воздействия комплекса биотических и абиотических факторов среды (патогенов, загрязняющих веществ, температуры) на иммунные ответные реакции природных популяций.

В–пятых, в отличие от амфибий, рептилии характеризуются ослабленными реакциями отторжения чужеродного трансплантата, выработкой широкого спектра цитокин-подобных компонентов, функциональная роль которых требует своего дальнейшего изучения и представляет несомненный интерес с таксономической точки зрения.

Отметим и модулирующее воздействие загрязнителей окружающей среды на реакции иммунитета рептилий. Показано, что пролиферация лимфоцитов положительно коррелирует с концентрацией полихлорированных бифенилов в крови морских черепах (Keller et al., 2006), тогда как ртуть подавляет митотическое деление клеток (Day et al., 2007). Модуляция иммунной системы на ксенобиотики может представлять большую опасность для рептилий в связи возрастающим прессом антропогенного загрязнения среды, а учитывая относительно длительный срок их жизни, увеличивается вероятность их кумуляции в организме (Guillette et al., 1994; Vitt, Caldwell, 2009). Однако на сегодняшний день вопросы оценки иммунного статуса рептилий под воздействием

антропогенного пресса остаются малоизученными. Формирование адаптивной реакции на популяционном уровне определяется разнокачественностью особей по основным физиологическим свойствам, вследствие чего их группировки по-разному реагируют на одни и те же условия.

Знание механизмов регуляции защитных функций организма, необходимо как для теории, так и для решения практических природоохранных вопросов в области экологии отдельных видов. В то же время ещё недостаточно сведений о зависимости изменений в иммунокомпетентных органах рептилий в условиях острого и токсического воздействия иммунотоксикантов, что затрудняет, как понимание закономерностей формирования ответных реакций животных при воздействии загрязнителей, так и прогноз возможности выживания рептилий в антропогенно измененных условиях среды обитания. Поэтому сравнительный анализ гематологических характеристик ядовитых и неядовитых видов важен для выявления специфики путей адаптации организма на уровне системы крови, обеспечивающей гомеостаз организма.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика районов и объектов исследования

Лабораторные и полевые исследования проводили в течение 2014-2020 гг. на территории Самарской, Саратовской, Оренбургской, Астраханской областей, Мордовии и Казахстана (рисунок 1).

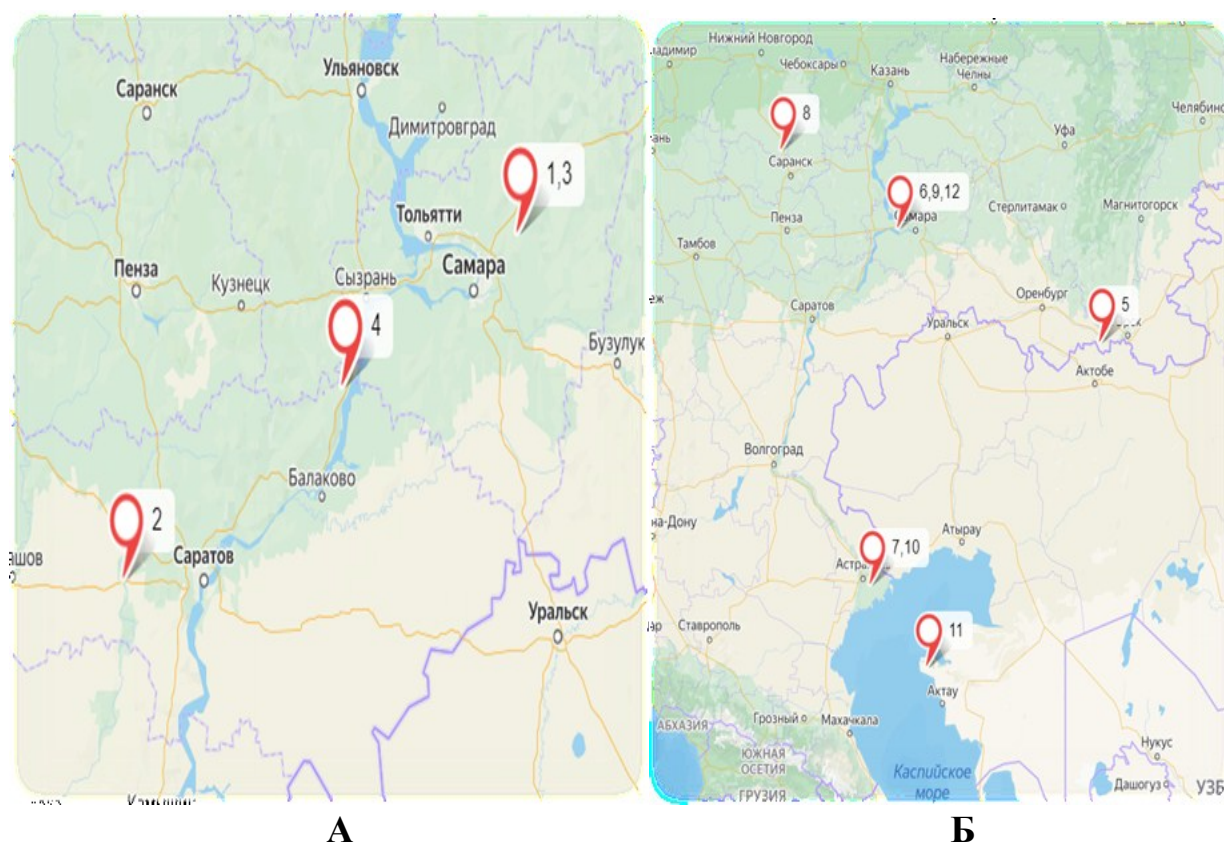


Рисунок 2.1. Места отлова ядовитых (А) и неядовитых (Б) змей

1 – *Vipera b. berus*, г. Самара, Красноглинский район; **2** – *V. b. nikolskii*, Саратовская область, Лысогорский район; **3** – *V. renardi bashkirovi*, Самарская область, Сергиевский район; **4** – *V. r. renardi*; Саратовская обл., Хвалынский район, окрестности; **5** – *Elaphe dione*, Оренбургская область, Кувандыкский район; **6** – *E. dione*, Самарская область, Ставропольский район; **7** – *Natrix natrix*, Астраханская область: Красноярский район; Харабалинский район, **8** – *N. natrix*, Мордовия, Темниковский район; **9** – *N. natrix*, Самарская область, Сызранский район; **10** – *N. tessellata*, Астраханская область: Красноярский район; Харабалинский район, **11** – *N. tessellata*, Казахстан, окрестности аула Кызылозен; **12** – *N. tessellata*, Самарская область: Сызранский район

Приведена краткая эколого-географическая характеристика местообитаний ядовитых и неядовитых змей с учетом природных зон, особенностей рельефа и климата, а также средняя температура и влажность

воздуха в период отлова змей, согласно базы климатических данных сайта (<https://www.meteonova.ru/klimat>) (таблица 2.1).

Таблица 2.1

**Краткая эколого-географическая характеристика района исследования
в месте отлова змей**

№ на карте	Места отлова	Природная зона	Температура, °С	Влажность воздуха, %
1	Самарская область, г. Самара, Красноглинский р-н	Лесостепная эколого-рекреационная зона. Умеренно-континентальный климат с холодной зимой и жарким, и влажным летом	21.2 - 24.3	57-60
2	Саратовская область, Лысогорский р-н	Лесостепная зона, южная часть правобережья Волги. Климат умеренно-континентальный, осадков выпадает около 450 мм/год	24.4	57
3	Самарская область, Сергиевский -н	Лесостепи, с преобладанием в ландшафте элементов степи. Климат умеренно континентальный. Характерны холодная малоснежная зима, короткие весна и осень, жаркое сухое лето	26.1	61
4	Саратовская обл., Хвалынский р-н	Лесостепная зоне, на правом берегу Волги. Рельеф района холмистый. Климат умеренно-континентальный. Характерны засушливость и большая изменчивость погоды	16.6-20.1	58-62
5	Оренбургская область, Кувандыкский р-н	Зона степи, климат резко континентальный, с большой амплитудой колебаний средних температур воздуха и недостаточной влажностью	24.7	48
6	Самарская область Ставропольский р-н	Лесостепная зона. Умеренно-континентальный климат с холодной зимой, жарким, и влажным летом	22.6	63

7, 10	Астраханская область, Красноярский р-н; Харабалинский р-н	Зона полупустыни, территория в основном равнинная, безлесная, умеренно континентальный, засушливый, тёплый	27.3-28.6	39-40
8	Республика Мордовия, Темниковский р-н	Зона широколиственных лесов, умеренно континентальный влажный климат с тёплым летом	17	65
9, 12	Самарская область Сызранский район,	Лесостепная зона. Умеренно-континентальный климат с холодной зимой и влажным летом	22.6	63
11	Казахстан, аул Кызылозен	Зона полупустыни и пустыни, резко континентальный климат с тёплым летом и очень холодной зимой	26	40

Самарская область. Область расположена в юго-восточной части европейской территории России, в среднем течении Волги, по обеим её сторонам. Это пятый по площади регион Поволжья – занимает территорию площадью 53,6 тыс. км², что составляет 0,31 % территории России. Область протянулась с севера на юг на 335 км, а с запада на восток – на 315 км. Самая южная точка области лежит на границе с Казахстаном (51°47' с. ш. и 50°47' в. д.), самая северная — на границе с республикой Татарстан (54°41' с. ш. и 51°23' в. д.). Крайняя западная точка лежит на границе с Ульяновской областью (53°22' с. ш. и 47°55' в. д.), а крайняя восточная – на границе с Оренбургской областью (54°20' с. ш. и 52°35' в. д.) (Васильева, Баранов, 2007). Располагается на Восточно-Европейской платформе. Реки Волга и Самара являются границами внутреннего деления области по рельефу. Выделяют три части: Правобережье, Северное и Южное Левобережья. Большая часть территории области (91,2 %) находится в Левобережье. Правобережье, или Предволжье, является возвышенным районом, в нём находятся Жигулёвские горы. На севере Левобережья находятся плоская равнина и Высокое Заволжье – Бугульминско-Белебеевская возвышенность и

её отроги (Сокские яры, Кинельские яры, Соколы горы). Юг Левобережья представляет собой пологоволнистую равнину, на юг области заходят участки возвышенности Общий Сырт (Синий, Средний, Каменный, Перелюбский Сырты). Город Самара расположен на новых (кайнозойских) образованиях, которые лежат на пермских и каменноугольных породах, образовавшихся 240–300 млн лет назад. Кристаллический фундамент архейской эры залегает на глубине 1400–1600 м. Рельеф города умеренно всхолмлённый. Наибольшей высотой отличается северная часть города (Красноглинский район), в состав которого входят Соколы горы. Со стороны Волги преобладают песчаные почвы, со стороны реки Самара – глинистые.

Территория Самарской области находится в двух природно-географических зонах – лесостепной и степной. Почвенный покров представлен серыми лесными почвами, выщелоченными, типичными и южными чернозёмами, каштановыми почвами, а также солонцами и солончаками. Значительные площади пашни подвержены водной эрозии. Эродированные почвы встречаются практически во всех хозяйствах области (Васильева, Баранов, 2007).

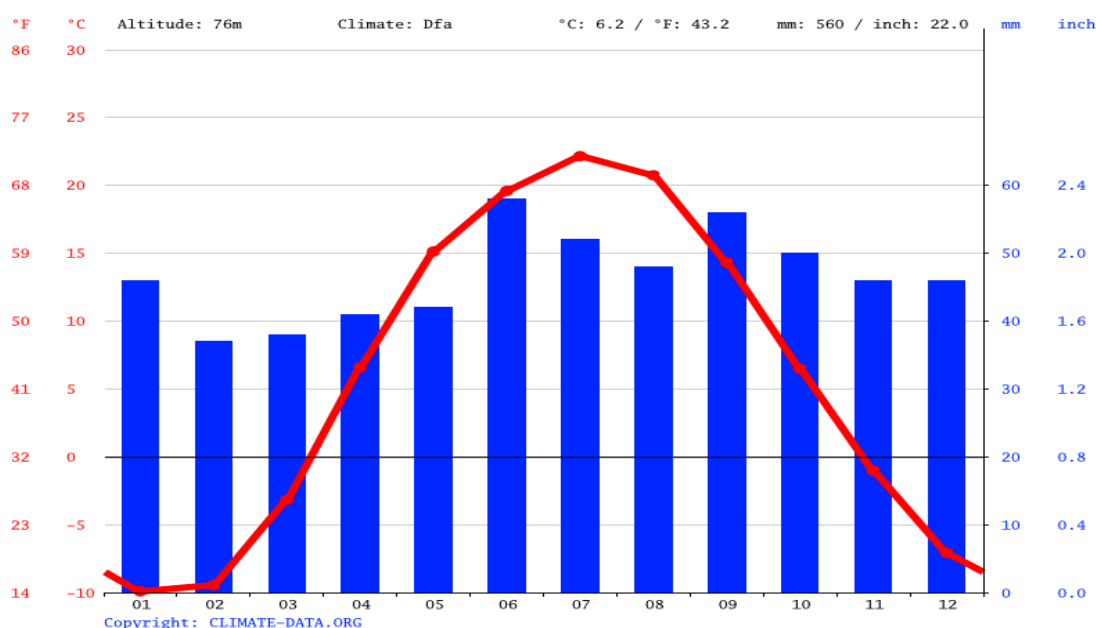


Рисунок 2.2. Климатограмма г. Самара со среднегодовыми температурами и влажностью

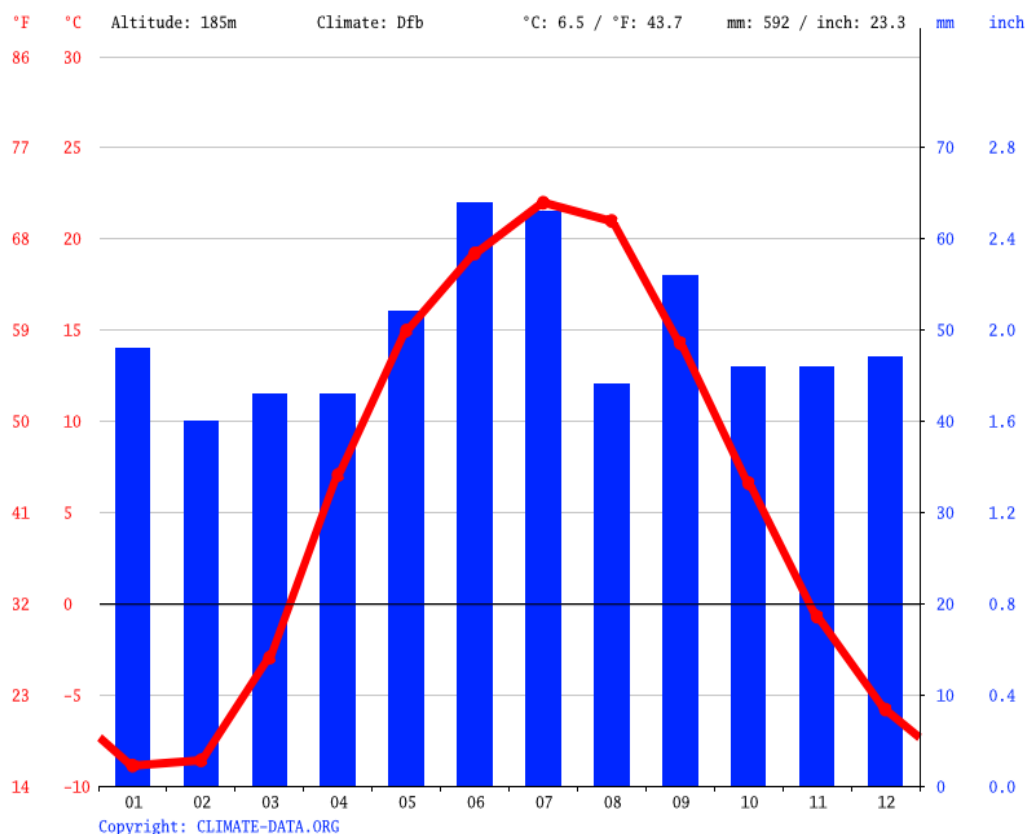
Климат умеренно континентальный. Лето жаркое и довольно влажное. Зима умеренно-морозная, снежная, длительная. Весна и осень довольно короткие, прохладные. От севера к югу городского округа более выражено проявляются черты континентального засушливого климата, что обусловлено различным влиянием речного воздушного потока Волги. Разность среднемесячных летних и зимних температур достигает 31 °С, а разность абсолютных экстремумов – 83 °С. Максимумы выпадения осадков достигаются в июле и июне. Самый засушливый месяц – март. Зимой преобладает южный ветер, весной и летом – северный, осенью – юго-западный и южный. Среднегодовые значения температуры и влажности в г. Самара представлены климатограммой (рис. 2.2).

Саратовская область. Саратовская область расположена на юго-востоке Европейской части России, в северной части Нижнего Поволжья. С запада на восток территория вытянута на 575 км, с севера на юг – на 330 км. Через область протекает река Волга, которая делит область на 2 части: Левобережье и Правобережье. Лысогорский район находится в южной части правобережья Волги в Саратовской области. Территория района расположена на западных отрогах Приволжской возвышенности, в среднем течении реки Медведица. Медведица – левый приток Дона. Склоны к Медведице на всем протяжении покрыты лесом по большей части дровяным или частым кустарником. Преобладающим видом является дуб, затем идут клен, ольха, осина, вяз, липа и др. Вся прибрежная сторона Медведицы имеет супесчано-черноземную и песчаную почву (<https://www.lysyegory.ru/articles/60-1-geograficheskoe-polozhenie.html>).

Климат области умеренно-континентальный. Для климата характерны засушливость и большая изменчивость погоды – засухи случаются в среднем раз в три года. Континентальность климата возрастает с севера на юго-восток – увеличивается амплитуда колебаний температуры воздуха и уменьшается количество осадков. В Левобережье климат более засушливый, погода летом

жаркая с небольшим количеством осадков, зима малоснежная с низкой относительной влажностью воздуха. Климат Правобережья Саратовской области мягче, с большим количеством осадков, чем в Левобережье. Лето в Саратовской области длится около четырех месяцев, погода летом обычно малооблачная и сухая. Осадки выпадают неравномерно, в виде ливней с грозами. Часто вся месячная сумма осадков может складываться из одного–двух дождей. Самый жаркий месяц – июль, со средней дневной температурой воздуха +25 градусов, но часто с начала июля и до середины августа наблюдается жаркая погода с температурами не ниже +30 градусов. При этом в Левобережье наблюдаются засухи большой силы, вызывающие засухи.

A



Б

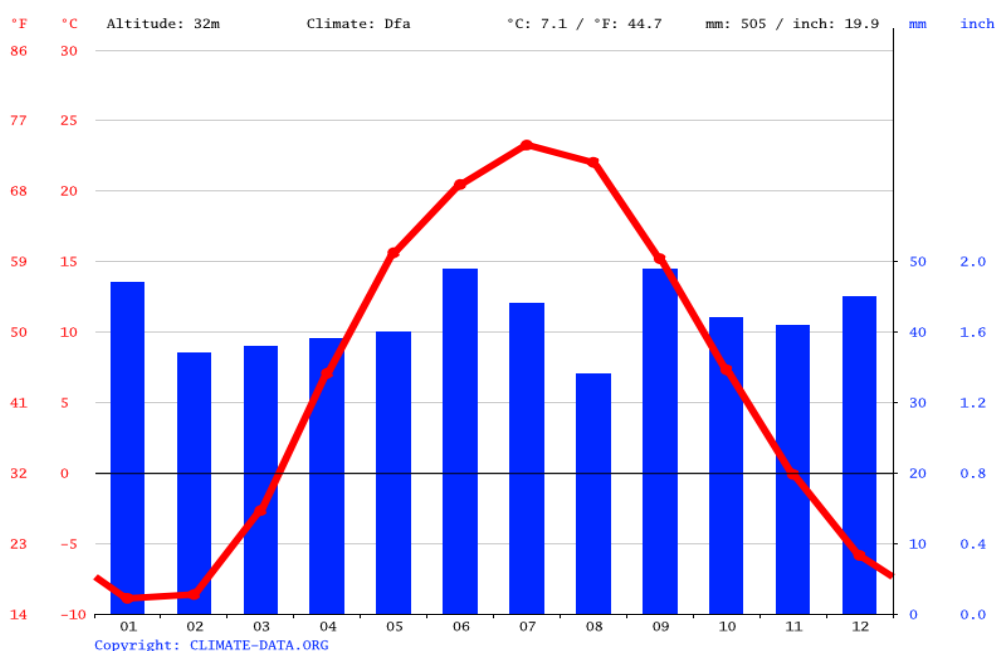


Рисунок 2.3. Климатограммы правобережья (А) и левобережья (Б) Саратовской области со среднегодовыми температурами и влажностью

Саратовская область относится к зоне засушливого климата. В Правобережье выпадает около 450 мм осадков, а Левобережье - около 300 мм в год (<https://www.meteonova.ru/klimat/64/Saratovskaya%20Oblast/>). Среднегодовые значения температуры и влажности в Саратовской области представлены климатограммами (рис. 2.3 А, Б).

Оренбургская область. Область расположена на стыке двух частей света – Европы и Азии. Территория области охватывает юго-восточную окраину Восточно-Европейской равнины, южную оконечность Урала и южное Зауралье. Протяжённость области с запада на восток составляет 760 км, с севера на юг – 445 км. Айтуарская степь на левобережье Урала ограничена с севера поймой реки, с юга – границей распаханного плато, с запада – балкой Акбулак и с востока – границей с Казахстаном. Площадь степи – больше 6 тысяч гектаров, это участок государственного заповедника «Оренбургский» (<https://russia.travel/objects/296357/>).

Почти вся территория Айтуарской степи представляет собой систему глубоких горных балок, проложенных преимущественно с юга на север по простиранию складчатости и пластов горных пород. На формирование почвенного покрова Айтуарской степи, наряду с сухотью климата, непромывным водным режимом, преобладанием ксерофитной растительности, процессами осолонцевания и соленакопления, решающее значение оказывает вертикальная дифференциация рельефа и пестрая литология.

Для гребней хребтов и верхних частей склонов характерны неполноразвитые почвы и их комплексы с выходами коренных пород. На плакорах и на пологих склонах сформировались черноземы южные остаточного-карбонатные малогумусные маломощные тяжелосуглинистые и глинистые. Мощность гумусового горизонта даже на плато не превышает 30 см, содержание гумуса повсеместно – менее 6 %. Встречаются почвы с хлоридно-сульфатным засолением. По днищам балок – лугово-черноземные среднегумусные почвы тяжелого механического состава. В понижениях получили развитие лугово-болотные почвы (Ломакина, Тюрин, 2014).

Среднегодовые значения температуры и влажности в Оренбургской области представлены климатограммой (рис. 2.4).

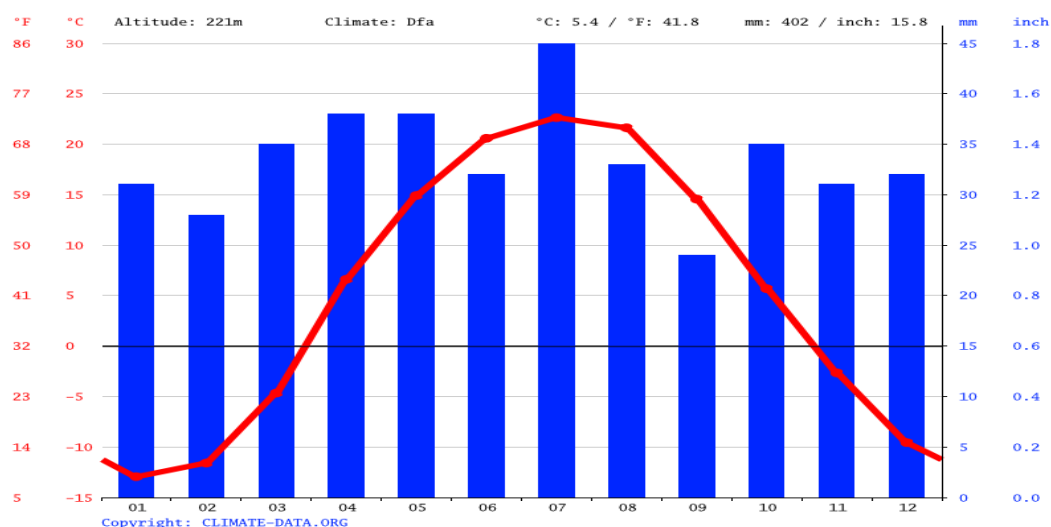


Рисунок 2.4. Климатограмма левого бережья Оренбургской области со среднегодовыми температурами и влажностью

Астраханская область. Астраханская область расположена в южном Поволжье, на Прикаспийской низменности, при впадении Волги в Каспийское море. Находится в зоне полупустыни, поверхность территории в основном равнинная, почти безлесная, частично лежит ниже уровня моря (высоты от – 2,7 м на севере до – 27,5 м на юге). Для рельефа характерны соляно-купольные поднятия в Прикаспийской низменности (высшая точка - гора Большое Богдо, 150 м). На Волго-Ахтубинской пойме – прирусловые гривы, высокие песчаные гряды, много протоков, стариц (http://www.mnr.gov.ru/activity/regions/astrakhanskaya_oblast/?sphrase_id=8414 1). Климат Астрахани умеренно континентальный, засушливый, тёплый, формируется под воздействием циркуляционных атмосферных процессов южной зоны умеренных широт. Территория доступна также выносу арктических, тропических (из Средиземноморья и Ирана), а также морских (с Атлантики) и континентальных (из Казахстана) воздушных масс. Зимой редкие осадки выпадают в виде дождя или снега, который, как правило, быстро тает. Характерны восточные ветры, определяющие сухость и запыленность воздуха летом и сравнительно невысокие температуры зимой. Господствующее положение (60-70 % летом и 80 % – зимой) занимают континентальные воздушные массы умеренных широт.

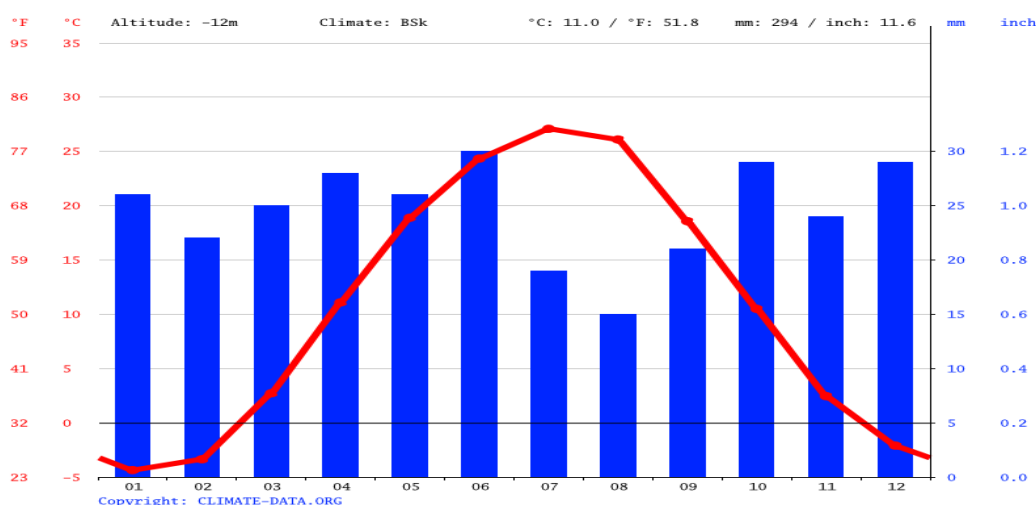


Рисунок 2.5. Климатограмма г. Астрахани со среднегодовыми температурами и влажностью

В целом климат самый континентальный и засушливый на всей европейской территории России. Для климата Астраханской области свойственны значительные годовые и суточные колебания температуры воздуха и сравнительно небольшое количество осадков. Лето жаркое. Наиболее жаркий месяц года – июль. Зима мягкая, малоснежная. Наиболее холодный месяц – февраль. Погода, в основном, ясная или облачная.

Среднегодовые значения температуры и влажности в Астраханской области представлены климатограммой (рис. 2.5).

Республика Мордовия. Мордовия располагается на Восточно-Европейской равнине. Из крупных форм земной поверхности на территории республики выделяются Приволжская возвышенность и Окско-Донская низменность. Приволжская возвышенность занимает восточную и большую часть центральной Мордовии. Выровненные верхние поверхности водораздельных массивов эрозионно-денудационной возвышенности имеют абсолютные высоты от 280 до 320 м. Широкое распространение имеют крутые склоны, на которых протекает активная денудация – снос, удаление продуктов выветривания посредством плоскостного смыва и гравитационных перемещений. Активное развитие эрозионных процессов обусловило значительную густоту овражно-балочной сети.

Возвышенность расчленяется реками Большая и Малая Кша, Штырма, Лаша, Чеберчинка. Долины рек имеют асимметричное строение. Склоны западной и южной экспозиций крутые, а восточной и северной – пологие. В долинах малых рек прослеживаются террасы. Минимальные абсолютные высоты в этой части Приволжской возвышенности отмечены в пойме Суры – около 90 м. Ее долина имеет правостороннюю асимметрию бортов. Правый склон крутой, местами обрывистый, левый – пологий. Надпойменные террасы слабо выражены. На их месте под действием ветра образовались песчаные гряды и дюны протяженностью 500 – 700 м и высотой до 15 м. Они разделяются понижениями, которые часто заболочены.

Окско-Донская низменность расположена в западной Мордовии. В виде древних ложбин стока она вклинивается на Приволжскую возвышенность. Максимальные абсолютные отметки редко превышают 180 м. Низменность имеет широкие водораздельные пространства – до 10 км и пологие склоны, слабо расчлененные оврагами и балками. Поверхности водоразделов равнины довольно часто осложнены эоловыми дюнами, а в междуречье Мокши и Алатыря – карстовыми западинами и котловинами.

Наиболее крупными долинами являются Мокшинская и Алатырская. В строении долин прослеживается асимметричность – правые склоны, как правило, крутые и высокие, а левые – пологие. Исключение составляет долина среднего течения Мокши, которая на значительном протяжении имеет левостороннюю асимметрию. В долинах рек выделяются пойма и три надпойменные террасы.

Особенности притока солнечной радиации определяют сезонный ход температур. Средняя температура самого холодного месяца – января изменяется от $-11,5^{\circ}$ до $-12,3^{\circ}$, а самого теплого месяца – июля – от $18,9^{\circ}$ до $19,8^{\circ}$. Таким образом, ее годовая амплитуда составляет $32,1^{\circ}$. Среднегодовая температура воздуха варьирует от $3,5^{\circ}$ до $4,0^{\circ}$.

В формировании основных черт климата Мордовии участвуют три типа воздушных масс: арктические, умеренных широт и тропические с преобладанием второго типа. Воздушные массы представлены двумя разновидностями – континентальными и морскими. Морские содержат большое количество влаги и в холодный период часто становятся причиной формирования оттепелей, а летом – прохладной погоды.

Средняя годовая сумма осадков на территории Мордовии – 480 мм. В течение многолетних наблюдений отмечались периоды большего и меньшего увлажнения. Отклонение в сторону минимальных и максимальных значений составляет 180 мм. В течение года преобладают осадки теплого периода. С апреля по октябрь их выпадает 70 – 80 % от годовой нормы. Среднее количество осадков в июле составляет около 65 мм, минимальная месячная

сумма осадков приходится на февраль – 15 – 30 мм (Ямашкин, Руженков Ямашкин, 2004).

Среднегодовые значения температуры и влажности в Мордовии представлены климатограммой (рис. 2.6).

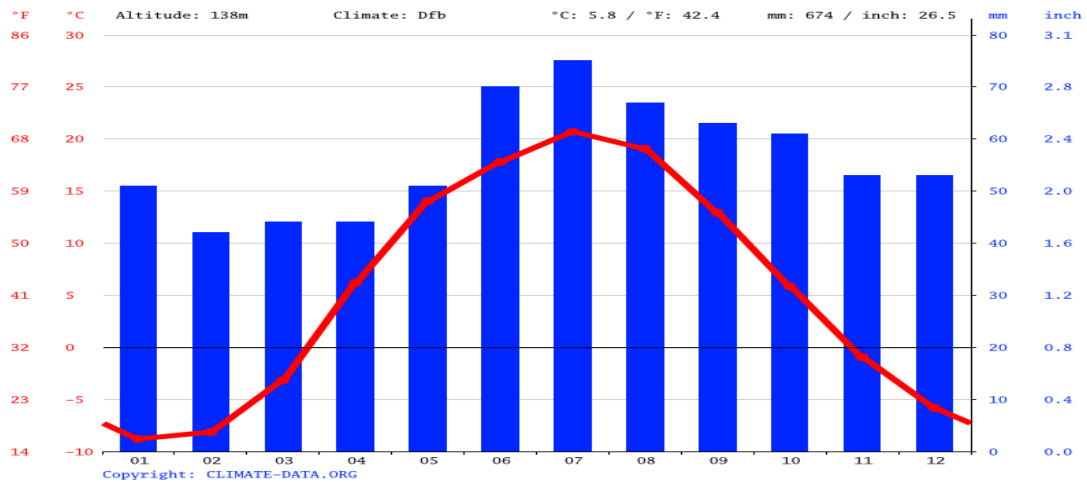


Рисунок 2.6. Климатограмма республики Мордовии со среднегодовыми температурами и влажностью

Республика Казахстан, Мангистауская область. Мангистауская область находится на юго-западе Казахстана, на стыке единственного на планете внутреннего моря – Каспийского – и огромной пустыни, лежащей ниже уровня Мирового океана.

Северную часть области занимает Прикаспийская низменность. В центре – полуостров Мангышлак и одна из самых глубоких впадин мира – Карагие. Юго-западное плато Кендерли – Коясан опустилось в другую гигантскую впадину – Карынжарык. А на восток простирается плато Устюрт. Вся огромная территория области – 165,6 тыс. км² и разделена двумя параллельными хребтами Актау и Каратау. Большая часть территории занята полынно-солончаковой пустыней с участками кустарниковой растительности.

Климат резко-континентальный, засушливый. Средняя температура января 4-90 °C. Годовое количество осадков не более 150 мм. Климат Мангистауской области формируется под преобладающим влиянием арктических, иранских и туранских воздушных масс. В холодный период

года здесь господствуют массы воздуха, поступающие из западного отрога сибирского антициклона, в теплый период они сменяются перегретыми тропическими массами из пустынь Средней Азии и Ирана. Под влиянием этих воздушных масс формируется резко континентальный крайне засушливый тип климата. Влияние Каспийского и Аральского моря также очень ограничено. Оно заметно лишь в узкой полосе побережья и выражается в небольшом увеличении влажности воздуха, повышении температуры в зимние месяцы, понижении температуры в летние месяцы, в уменьшении годовых и суточных амплитуд температуры. Средняя температура января – самого холодного месяца $-5, -8^{\circ}\text{C}$ на севере и $-1, -4^{\circ}\text{C}$ на юге территории. В целом зима довольно теплая, непродолжительная, с часто наблюдающимися оттепелями на юге области. Лето на большей части территории области жаркое и продолжительное. Повсеместно средняя температура июля (самого жаркого месяца) не ниже $24,0^{\circ}\text{C}$. Длительность периода со средней суточной температурой воздуха выше 0°C 250-300 дней. Осадков выпадает очень мало. Среднее годовое количество их не превышает 130-180 мм. Максимум осадков приходится на теплый период года. Среднегодовые значения температуры и влажности представлены климатограммой (рис. 2.7).

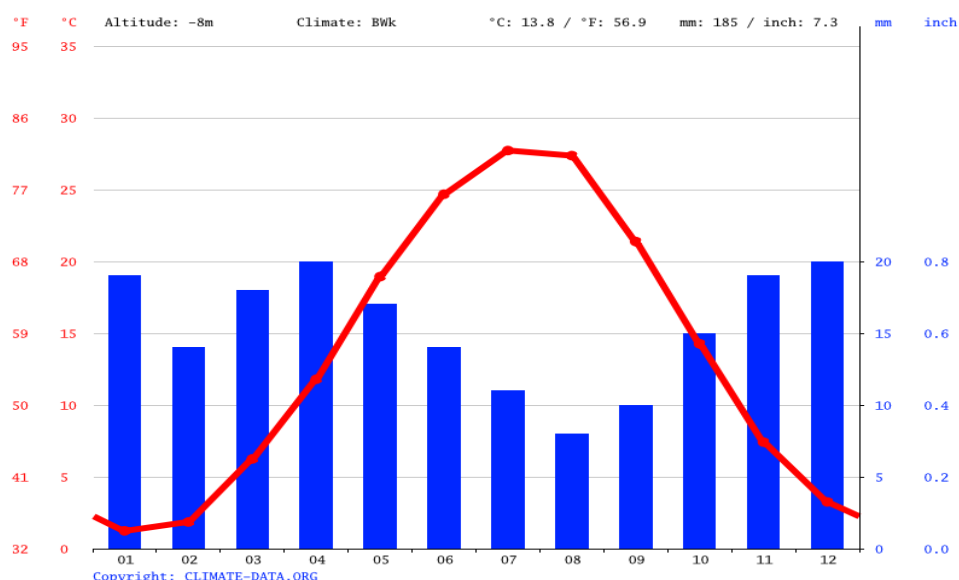


Рисунок 2.7. Климатограмма северной части Прикаспийской низменности (Казахстан, Мангышлак) со среднегодовыми температурами и влажностью

Объекты исследования. В работе использовано 532 экземпляра рептилий: ядовитых (136 особей, из них 58 самок, 41 самец, 37 сеголетков) и неядовитых (396 особей, из них 165 самок, 87 самцов, 144 сеголетков) змей. В том числе: рода *Vipera*: гадюка обыкновенная *V. berus* (Linnaeus, 1758), 75 особей: 36 самок, 26 самцов и 13 неполовозрелых особей; гадюка Никольского *V. berus nikolskii* (Vedmederja, Grubant, Rudayeva, 1986), 28 особей: 4 самки и 24 неполовозрелых особи; гадюка восточная степная *V. renardi* (Cristoph, 1861), 29 особей: 14 самок и 15 самцов; гадюка Башкирова *Vipera renardi bashkirovi* (Garanin, Pavlov, Bakiev, 2004), 4 особи. Рода *Natrix*: уж водяной *N. tessellata* (Laurenti, 1768), 235 особей: 87 самок, 58 самцов, 90 сеголетков; уж обыкновенный *N. natrix* (Linnaeus, 1758), 96 особей: 70 самок, 19 самцов и 7 сеголетков. Рода *Elaphe*: узорчатый полоз *E. dione* (Pallas, 1773), 65 особей: 8 самок, 10 самцов и 47 сеголетков (таблица 2.2).

Таблица 2.2

Экспериментальные животные, использованные в работе

Вид	Район исследования (координаты)	Время отлова	Количество особей		
			♀♀	♂♂	Сего-летки
Ядовитые змеи. Семейство Гадюковые (Viperidae)					
Гадюка обыкновенная <i>Vipera berus berus</i>	г. Самара, Красноглинский район (лесопарковая городская зона, часто посещаемая отдыхающими и спортсменами). (координаты: 53°24'49.1"N, 50°08'39.0"E	май, 2014	13	6	-
		июль, 2014	14	2	-
		сентябрь, 2014	3	11	-
		май, 2015	2	7	-
		июль, 2017	4	-	13
Гадюка Никольского <i>Vipera berus nikolskii</i>	Саратовская область, Лысогорский район, левый берег р. Медведица, окрестности д. Старая Красавка (координаты: 51°29'38.3"N, 44°53'39.7"E)	июль, 2017	4	-	24
Гадюка Башкирова <i>Vipera renardi bashkirovi</i>	Самарская область, Сергиевский район, окрестности с. Ендурайкино, (координаты: 53°47'50.0"N, 51°22'34.1"E)	июль, 2017	4	-	-

Гадюка восточная степная <i>Vipera renardi renardi</i>	Саратовская обл., Хвалынский район, окрестности с. Апалиха (координаты: 52°19'48.8"N 47°39'52.4"E)		май, 2015	9	13	-
			сентябрь, 2015	5	2	-
Всего ядовитых змей:				58	41	37
Неядовитые змеи. Семейство Ужеобразные (Colubridae)						
Узорчатый полоз <i>Elaphe dione</i>	Оренбургская область, Кувандыкский район, ГПЗ "Оренбургский", Айтуарская степь, (координаты: 51°06'46.0"N, 57°39'26.0"E)		июнь-июль, 2017	8	10	-
	Самарская область	Сызранский район, с. Переволоки, (координаты: 53.248363, 49.175216)	август, 2019	-	-	43
		Ставропольский район, с. Мордово (координаты: 53.170068, 49.453191)		-	-	4
Уж обыкновенный <i>Natrix natrix</i>	Астраханская область	Красноярский район, между поселком Комсомольским и Лапасом (координаты: 46°55'42.2"N, 47°51'45.6"E)	август, 2017	14	6	-
		Красноярский район, около моста через р. Ахтуба, между Белячим и Ясын- Сокан (координаты: 46°40'48.4"N, 48°04'12.9"E)		4	4	-
		Харабалинский район, между Бугор и Михайловкой (координаты: 47°36'18.5"N, 46°53'15.2"E)		6	1	-
		Харабалинский район, южные окрестности Харабали, дорога на Гремучий, мост через Ашулук (координаты: 47°22'50.2"N 47°17'08.4"E)		2	2	-
		Красноярский район, поселок Комсомольский (координаты: 46°51'26 "N, 47°56'18"E)	август, 2020	7	6	
	Республика Мордовия, Темниковский район, Мордовский	село Пушта, оз. Верхнее (координаты: 54.715120, 43.224883)	июнь, 2019	8	-	-
		кордон Инорский (координаты:		20	-	-

	государственный природный заповедник имени П.Г. Смидовича	54.722031, 43.161468)				
		кордон Павловский (координаты: 54.778087, 43.350421)		9	-	-
	Самарская область, Сызранский район, с. Переволоки, (координаты: 53.248363, 49.175216)		август, 2019		-	7
Уж водяной <i>Natrix tessellata</i>	Астраханская область	Красноярский район, между поселком Комсомольским и Лапасом (координаты: 46°55'42.2"N, 47°51'45.6"E)	август, 2017	17	8	-
		Красноярский район, около моста через р. Ахтуба, между Белячим и Ясын- Сокан (координаты: 46°40'48.4"N, 48°04'12.9"E)		10	6	-
		Харабалинский район, между Бугор и Михайловкой (координаты: 47°36'18.5"N, 46°53'15.2"E)		3	1	-
		Харабалинский район, южные окрестности Харабали, дорога на Гремучий, мост через Ашулук (координаты: 47°22'50.2"N 47°17'08.4"E)		2	2	-
		Красноярский район, поселок Комсомольский (координаты: 46°51'26 "N, 47°56'18"E)	август, 2020	28	14	
	Республика Казахстан, окрестности аула Кызылозен, берег Каспийского моря (координаты: 44.298002, 50.506816)		май, 2019	27	27	-
	Самарская область	Сызранский район, с.Переволоки, (координаты: 53.248363, 49.175216)	август, 2019	-	-	83
		Ставропольский район, с. Мордово (координаты: 53.170068, 49.453191)				7
<i>Всего неядовитых змей:</i>				165	87	144
ИТОГО ядовитых и неядовитых змей 532 экземпляра:				223	128	181

Все работы с животными проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012).

2.2. Метод определения лейкоцитарного состава крови рептилий

Для получения образцов крови животных обездвигивали путём захвата и делали пункцию верхнечелюстной вены иглой, смоченной в растворе гепарина, для взятия крови и приготовления мазков. Дифференцированный подсчёт лейкоцитов проводили с иммерсией ($\times 1500$) после фиксации и окрашивания мазков по Романовскому – Гимзе. С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (азурофилы, моноциты, лимфоциты) (Campbell, 2006; Хайрутдинов, Соколина, 2010). На основании лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед):

1. Индекс сдвига лейкоцитов (*ИСЛ*), отн. ед.:
$$= \frac{\sum \text{гранулоцитов}}{\sum \text{агранулоцитов}};$$
2. Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (*ИСЛЭ*), отн. ед.:
$$= \frac{Л}{Э};$$
3. Индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов (*ИСГЭ*), отн. ед.:
$$= \frac{Г}{Э};$$
4. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (*ИЛГ*), отн. ед.:
$$= \frac{Л \cdot 10}{Э + Г + Б};$$
5. Индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), отн. ед.:
$$= \frac{Г}{Л}.$$

где Л – лимфоциты; Э – эозинофилы; Г – гетерофилы; Б – базофилы.

Линейные размеры лейкоцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра cross-line (0.1 mm) (микроскоп Meiji Techno с иммерсией, Japan). Площадь поверхности клеток S (в $\mu\text{м}^2$) рассчитывали по формуле эллипса:

$S = \pi \cdot a \cdot b$, где $\pi = 3.14$; a – длина большой полуоси эллипса, мкм; b – длина меньшей полуоси эллипса, мкм.

2.3. Статистический анализ экспериментальных данных

Критериями согласия оценивали нулевую гипотезу о соответствии анализируемых показателей нормальному распределению. Поскольку полученное значение p для данных критериев оказалось меньше принятого критического уровня, то нуль-гипотеза была отклонена и принята альтернативная гипотеза – распределение показателей считать отличающимся от нормального. С учетом вида распределения центральные тенденции и рассеяние изученных показателей описывали медианой (Me) и межквартильным размахом (IQR , разность значений 75-го и 25-го перцентилей). Дальнейший анализ проводили методами непараметрической статистики с применением критериев:

- Краскела – Уоллиса (H) (при сравнении нескольких независимых групп по одному признаку);
- Данна (z) (множественный критерий при попарном сравнении групп);
- Манна-Уитни (u) при сравнении двух групп;
- Уилкоксона (w) (при анализе межгодовых различий);
- Коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ).

Методами классификационного анализа (кластерный анализ, метод главных компонент) проводили группировку объектов исследования и визуализацию межгрупповых различий. За величину уровня статистической значимости принимали $\alpha=0,05$. При проведении множественных сравнений производилась коррекция критического уровня значимости.

ГЛАВА 3. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ РОДА *VIPERA* ВОЛЖСКОГО БАССЕЙНА

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

Общая реактивность организма при адаптации к внешним воздействиям, сезонным изменениям загрязнению внешней среды находит отражение со стороны системы крови, как универсальной внутренней среды. Тем не менее, анализ лейкоцитарной формулы крови в отношении таких «классических» показателей острого воспаления и интоксикации, может быть недостаточно информативным, поскольку в условиях низкой реактивности

или при недостаточном иммунном ответе организма одновременное сочетание таких показателей как лейкоцитоз и гранулоцитарный сдвиг формулы влево может и не проявляться. Дополнительную информацию об интоксикации и состоянии иммунного ответа организма могут дать гематологические лейкоцитарные индексы, которые отражают взаимоотношения между различными типами клеток иммунного ответа. Лейкоцитарные индексы могут быть альтернативой сложным и дорогостоящим исследованиям типа иммунограммы, определения содержания цитокинов и ряда других биохимических параметров (Davis et al., 2008, 2012). Тем не менее данные по информативности интегральных лейкоцитарных индексов в сравнении с другими методиками оценки реактивности в литературе немногочисленны и фрагментарны и лишь в немногочисленных исследованиях гематологического ответа рептилий (Case et al., 2005; Chen et al., 2007) были рассчитаны единичные лейкоцитарные индексы интоксикации для оценки уровня стрессорного воздействия (Davis et al., 2008). С целью расширения возможности оценки интоксикации и реактивности организма рептилий дополнительно к результатам анализа формулы крови (Николаев, 2016; Романова и др., 2016) впервые предлагается расчет нескольких индексов иммунной реактивности, позволяющих конкретизировать точки приложения (воздействия) внешних факторов на разные уровни развития иммунного ответа.

В настоящей главе диссертационного исследования изучены лейкоцитарные профили 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) с целью выявления особенностей адаптивных реакций изученных видов ядовитых змей.

3.1. Лейкоцитарный состав крови гадюки обыкновенной *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) Самарской области

Количественная оценка (%) основных видов лейкоцитарных клеток (формула крови, или лейкограмма) основана на распознавании образа клеток за счет различия их внешнего вида. Классификация лейкоцитов рептилий затруднена: частично за счет variability строения клеток у разных видов, частично из-за присутствия большого количества незрелых форм, а также из-за отсутствия единой номенклатуры в литературе и проведения исследования клеточного состава крови различными, несогласованными методиками (Соколова и др., 1997). С учетом анализа сведений литературы и собственных данных, в приготовленных мазках крови ядовитых змей была проведена дифференцировка следующих клеток: среди гранулоцитов выделяли гетерофилы, эозинофилы и базофилы, среди агранулоцитов – азурофилы, моноциты и лимфоциты.

Гадюка обыкновенная *Vipera berus* (Linnaeus, 1758). Обыкновенных гадюк (58 особей: самки – 32, самцы – 26) отловили в Красноглинском районе г. Самара в 2014 – 2015 гг. Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм периферической крови гадюки обыкновенной лесопарковой зоны г. Самары характеризовался преобладанием мононуклеарных клеток, составляющих 70 – 80% от всех лейкоцитов (рис. 3.1).

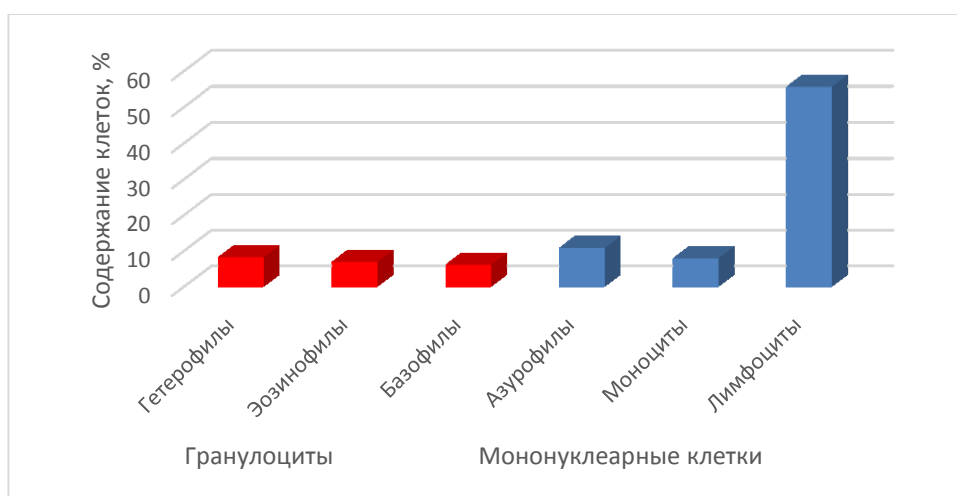


Рисунок 3.1. Лейкоцитарная формула крови гадюки обыкновенной: по оси абсцисс – тип лейкоцитарных клеток; по оси ординат – доля клеток, %

Статистически значимых сезонных гендерных различий в лейкоцитарном составе крови гадюки обыкновенной, обитающей в лесопарковой зоне г. Самары, за время наблюдений не выявлено. Лейкоцитарный профиль самцов и самок внутри выборки гадюки обыкновенной был одинаков (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Лейкоцитарный состав периферической крови самок гадюки обыкновенной из г. Самара

Показатель лейкограммы	Самцы, ♂♂		Самки, ♀♀		Критерий Манна – Уитни (u, p)
	Me	IQR	Me	IQR	
2014					
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	9.00	5.00	8.50	4.00	0.09, 0.92
Эозинофилы, %	9.00	3.00	8.00	3.00	0.58, 0.55
Базофилы, %	5.00	5.00	4.00	4.00	0.41, 0.68
Азурофилы, %	12.00	5.00	13.00	5.00	1.24, 0.21
Моноциты, %	7.00	4.00	7.00	5.00	0.22, 0.82
Лимфоциты, %	61.00	6.00	60.5	90.00	0.11, 0.91
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты (Σ)	22.00	6.00	20.00	5.00	0.77, 0.43
Агранулоциты (Σ)	78.00	6.00	80.00	5.00	0.78. 0.44
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	0.28	0.09	0.25	0.07	0.78, 0.44
ИСЛЭ, отн. ед.	6.77	14.37	7.71	11.50	0.78, 0.44
ИСГЭ, отн. ед.	1.20	0.88	1.19	4.00	1.89, 037
ИЛГ, отн. ед.	28.18	9.69	29.27	13.23	1.26, 0.20
ИСГЛ, отн. ед.	0.15	0.09	0.14	0.08	0.24, 080
2015					
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	8.00	4.50	9.00	5.00	0.22, 0.82
Эозинофилы, %	7.00	2.00	6.00	6.00	0.02, 0.97
Базофилы, %	8.50	9.00	8.00	13.00	0.27, 0.78
Азурофилы, %	10.00	4.00	9.00	5.00	0.63, 0.52
Моноциты, %	10.50	4.00	9.00	4.00	0.52, 0.59
Лимфоциты, %	52.50	9.50	54.00	7.00	0.69, 0.48
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты (Σ)	25.00	8.00	25.00	13.00	0.02, 0.97
Агранулоциты (Σ)	75.00	8.00	75.00	13.00	0.02, 0.97
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	0.33	0.14	0.33	0.24	0.02, 0.98
ИСЛЭ, отн. ед..	6.68	5.78	7.00	16.26	0.19, 0.84
ИСГЭ, отн. ед.	0.86	0.91	0.75	2.42	0.13, 0.88
ИЛГ, отн. ед.	21.96	9.82	22.40	11.73	0.19, 0.84
ИСГЛ, отн. ед.	0.15	0.09	0.18	0.08	0.02, 0.97

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах.

При этом установлены межгодовые различия лейкоцитарного профиля для обоих полов гадюки обыкновенной урбанизированной территории. Число различающихся показателей лейкоцитарного профиля в крови самок гадюки обыкновенной (табл. 3.2) оказалось существенно меньше, по сравнению с самцами (табл. 3.3).

Таблица 3.2

**Изменение лейкоцитарного профиля крови самок гадюки
обыкновенной г. Самары в 2014-2015 гг.**

Сравниваемые показатели лейкограммы	Критерий Вилкоксона, <i>W</i>	Уровень значимости, <i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>		
Гетерофилы, 2014 – гетерофилы, 2015	0.25	0.79
Эозинофилы, 2014 – эозинофилы, 2015	0.20	0.83
Базофилы, 2014 – базофилы, 2015	1.69	0.09
Азурофилы, 2014 – азурофилы, 2015	2.19	0.027
Моноциты, 2014 – моноциты, 2015	1.78	0.07
Лимфоциты, 2014 – лимфоциты, 2015	1.36	0.17
<i>Суммарное содержание клеток</i>		
Гранулоциты, 2014 – гранулоциты, 2015	1.98	0.04
Агранулоциты, 2014 – агранулоциты, 2015	1.99	0.04
<i>Лейкоцитарные индексы</i>		
<i>ИСЛ</i> , 2014 – <i>ИСЛ</i> , 2015	1.98	0.04
<i>ИСЛЭ</i> , 2014 – <i>ИСЛЭ</i> , 2015	1.35	0.17
<i>ИСГЭ</i> , 2014 – <i>ИСГЭ</i> , 2015	1.18	0.23
<i>ИЛГ</i> , 2014 – <i>ИЛГ</i> , 2015	1.52	0.12
<i>ИСГЛ</i> , 2014 – <i>ИСГЛ</i> , 2015	0.67	0.49

Примечание: Жирным шрифтом выделены статистически значимые межгодовые различия.

Содержание азурофилов в крови самок гадюки обыкновенной за период наблюдений уменьшилось (табл. 3.3), что отражалось на общем снижении доли агранулоцитов, компенсируемом повышением числа клеток

неспецифической защитной системы крови (гетерофилов, базофилов и эозинофилов) (рис. 3.2)

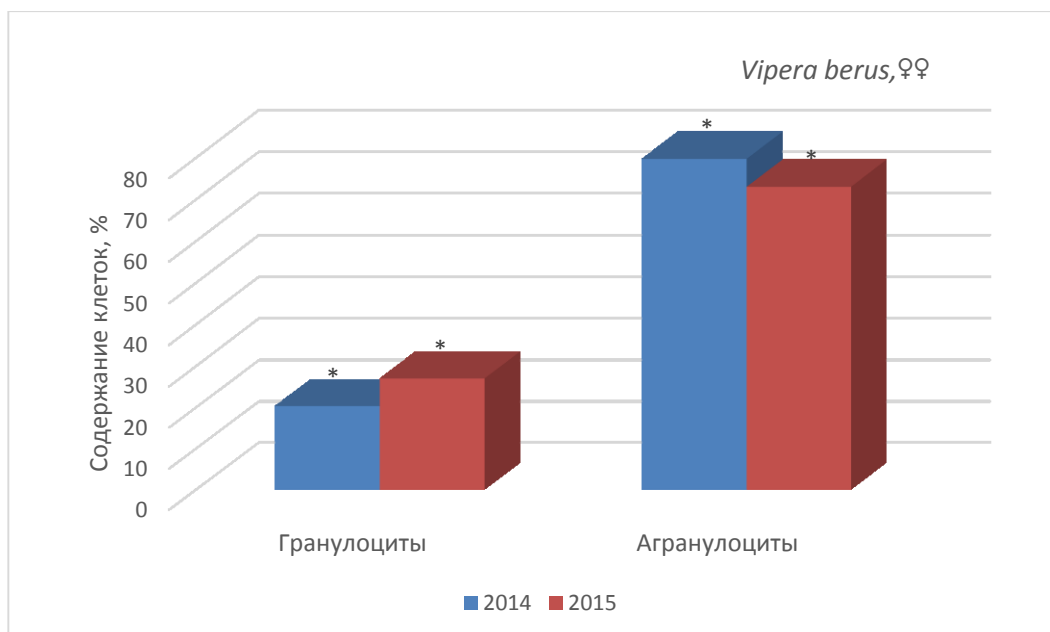


Рисунок 3.2. Изменение соотношения лейкоцитарных клеток в крови самок *Vipera berus* урбанизированной территории г. Самары за период двухлетних наблюдений

* - отмечены статистически значимые различия

Величина индекса сдвига лейкоцитов (*ИСЛ*) в крови самок в период двухлетних наблюдений значимо увеличивалась в 1,48 раза ($W = 1.99$, $p = 0.04$), что иллюстрировало выраженные отклонения адаптивных реакций системы крови гадюки обыкновенной к комплексу факторов среды обитания. Возрастание этого показателя свидетельствовало о перераспределении соотношения регуляторных иммунных клеток организма, при самых начальных стадиях стрессового воздействия, оказываемого на организм самок рептилий в условиях повышенной урбанизации, когда простое определение формулы крови еще не позволяет выявить количественно-качественные отклонения в реализации врожденных и адаптивных иммунных реакций.

Изменения лейкоцитарных показателей самцов гадюки обыкновенной, по сравнению с самками, оказались более разнообразными и проявлялись, как значимых различиях лейкоцитарного состава крови, так и в большинстве лейкоцитарных индексов (табл. 3.3).

Таблица 3.3

**Изменение лейкоцитарного профиля крови самцов гадюки
обыкновенной г. Самары в 2014-2015 гг.**

Сравниваемые показатели лейкограммы	Критерий Вилкоксона, <i>W</i>	Уровень значимости, <i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>		
Гетерофилы, 2014 – гетерофилы, 2015	0.56	0.56
Эозинофилы, 2014- эозинофилы, 2015	1.55	0.12
Базофилы, 2014 – базофилы, 2015	3.61	0.003
Азурофилы, 2014 – азурофилы, 2015	1.58	0.11
Моноциты, 2014 – моноциты, 2015	3.51	0.0004
Лимфоциты, 2014 – лимфоциты, 2015	3.37	0.0007
<i>Суммарное содержание клеток</i>		
Гранулоциты, 2014 – гранулоциты, 2015	2.88	0.003
Агранулоциты, 2014 – агранулоциты, 2015	2.88	0.0029
<i>Лейкоцитарные индексы</i>		
<i>ИСЛ</i> , 2014 – <i>ИСЛ</i> , 2015	2.86	0.004
<i>ИСЛЭ</i> , 2014 – <i>ИСЛЭ</i> , 2015	3.17	0.001
<i>ИСГЭ</i> , 2014 – <i>ИСГЭ</i> , 2015	2.67	0.007
<i>ИЛГ</i> , 2014 – <i>ИЛГ</i> , 2015	3.11	0.001
<i>ИСГЛ</i> , 2014 – <i>ИСГЛ</i> , 2015	1.20	0.22

Примечание: Жирным шрифтом выделены статистически значимые межгодовые различия.

Вначале отметим аналогичное с самками изменение соотношения совокупного содержания гранулоцитов и агранулоцитов в крови самцов гадюки обыкновенной в 2015 году, по сравнению с 2014. Как следует из полученных данных, суммарная доля агранулоцитов значимо изменялась, за счет перераспределения в крови мононуклеаров: количество лимфоцитов снижалась, а число моноцитов – возрастало. Такие изменения формулы крови иллюстрировали снижение специфической реакции иммунной системы организма и возрастание активности моноцитов, обеспечивающих

адаптивное функционирование организма гадюк в специфических условиях внешней среды (рис. 3.3).

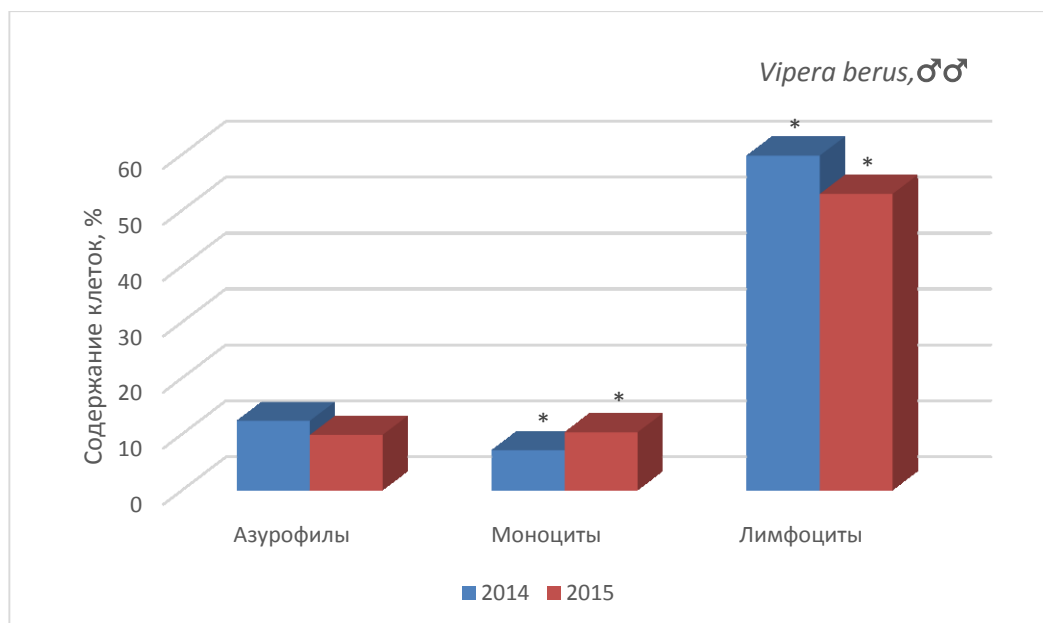


Рисунок 3.3. Изменение соотношения мононуклеарных клеток в крови самцов *Vipera b. berus* урбанизированной территории г. Самары за период двухлетних наблюдений

* - отмечены статистически значимые различия

Отдельно проанализируем выявленные отклонения интегральных лейкоцитарных показателей у самцов гадюки обыкновенной урбанизированной территории. Поддержание иммунологической реактивности организма в этих условиях определялось перераспределением соотношения пула гранулоцитов (за счет возрастания доли базофилов) и функциональной активностью моноцитов, что подтверждалось возрастанием показателя *ИСЛ* в 2015 году по сравнению с 2014 г. ($W = 2.86$, $p = 0.004$). Повышенное значение *ИСЛ* свидетельствовало о преобладающей роли в иммунном ответе гранулоцитов при некотором отставании клеток мононуклеарного ряда (в первую очередь лимфоцитов). Лимфоциты и моноциты являются основными клетками в реализации иммунного ответа на комплекс воздействующих на организм экологических факторов. Отставание в реагировании со стороны лимфоцитов приводит к их поздней активации как эффекторного звена иммунного ответа, что компенсировалось

повышением неспецифической защитной системой крови (содержание гранулоцитов) и фагоцитарной активностью моноцитов. В целом, повышение *ИСЛ* в крови гадюки обыкновенной в период двухлетних наблюдений, на фоне снижения лейкоцитарных индексов *ИСЛЭ* ($W = 3.17, p = 0.001$) и *ИЛГ* ($W = 3.11, p = 0.001$) можно рассматривать как неблагоприятный момент в отношении адекватности и своевременности реагирования системы иммунитета гадюки обыкновенной урбанизированной территории. Лейкоцитарный индекс *ИЛГ* является показателем сбалансированности ответной реакции клеток крови на инфекционные и воспалительные агенты внешней среды. Снижение этого индекса (*ИЛГ*) показывает возможность развития незавершенных иммунных реакций, особенно при относительной или абсолютной лимфопении. Индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), определяемый как «стрессовый» (Davis et al., 2008), в крови гадюки обыкновенной не изменялся, что свидетельствовало о достаточном ресурсе адаптационных механизмов и возможности активного ответа на комплекс факторов среды обитания (рис. 3.4).

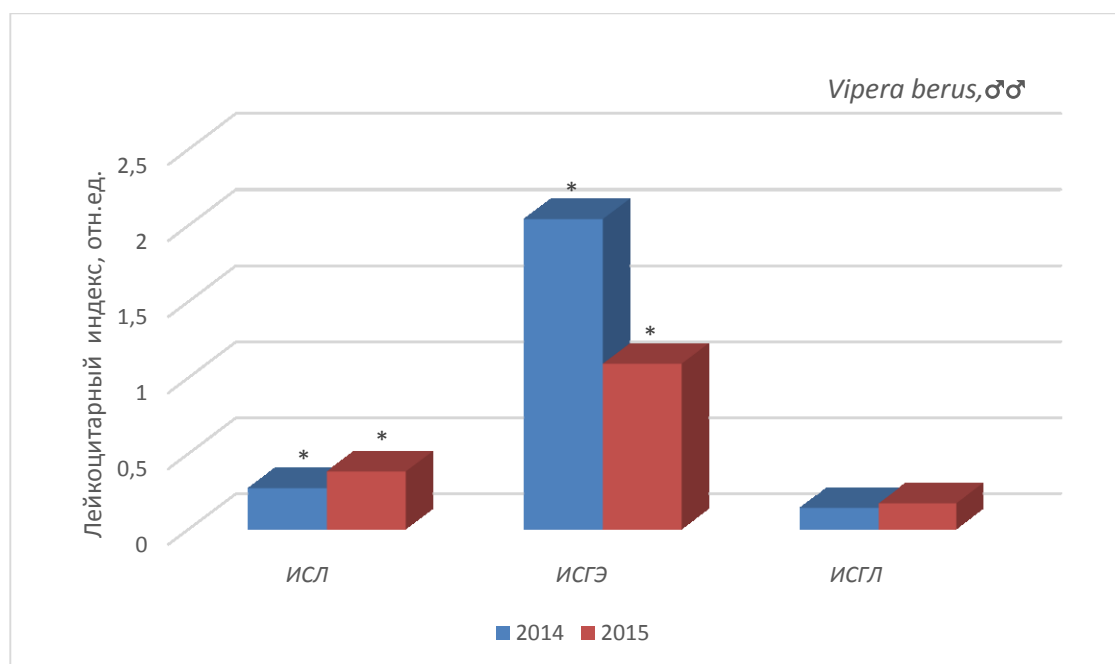


Рисунок 3.4. Изменение лейкоцитарных индексов в крови самцов *Vipera b. berus* урбанизированной территории г. Самары за период двухлетних наблюдений

* - отмечены статистически значимые различия

3.2. Лейкоцитарный состав крови восточной степной гадюки *Vipera renardi* (Christoph, 1861) Саратовской области

Степных гадюк (29 особей: самки – 14, самцы – 15) отловили в Хвалынском районе Саратовской области в 2015 г.

Большую долю в периферической крови степной гадюки составляли агранулоциты (60 – 70%), на долю гранулоцитов приходилось 30 – 35% (рис. 3.5).

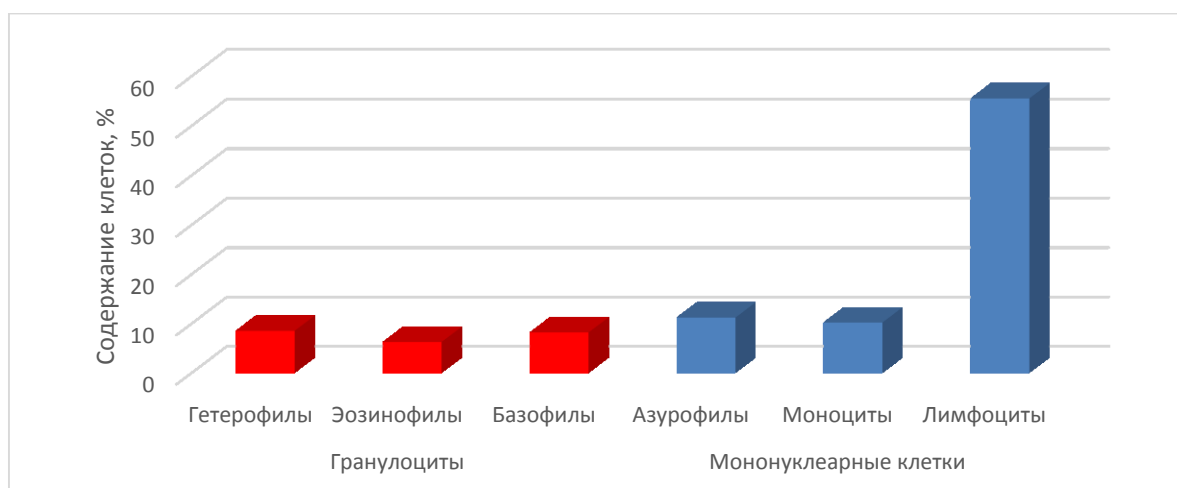


Рисунок 3.5. Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки степной Саратовской области: по оси абсцисс – тип лейкоцитарных клеток; по оси ординат – доля клеток, %

Гендерных различий в количественных показателях лейкоцитарной формулы и содержания гранулоцитов и агранулоцитов в крови гадюки степной не выявлено, однако у самок гадюки степной более высоким оказался индекс соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), что свидетельствовало о негативном воздействии на особей этой выборки (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки степной Саратовской области

Показатель лейкограммы	Самцы ♂♂ (n=15)		Самки ♀♀ (n=14)		Критерий Манна – Уитни (U, p)
	Me	IQR	Me	IQR	
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	7.00	3.50	9.00	5.00	1.93, 0.05
Эозинофилы, %	5.00	4.00	7.00	2.00	0.52, 0.59
Базофилы, %	8.50	3.00	7.50	3.00	0.91, 0.35

Используя полученные лейкоцитарные профили гадюк рода *Vipera* мы провели сравнительную оценку сбалансированности иммунного ответа особей двух видов за два года наблюдений.

Установлены статистически значимые межвидовые различия по отдельным лейкоцитарным показателям крови восточной степной гадюки в сравнении с лейкоцитарным профилем гадюки обыкновенной (табл. 3.5).

Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови *Vipera berus berus* (2014) и *Vipera renardi renardi*

Показатель лейкограммы	H	p	Самки ♀♀		Самцы ♂♂	
			Z	p	Z	p
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	6.07	0.10	0.03	1.00	1.94	0.30
Эозинофилы	11.15	0.01	1.87	0.36	2.68	0.04
Базофилы	38.84	<0.001	4.10	0.0002	4.23	0.0001
Азурофилы	10.24	0.01	1.40	0.95	1.63	0.60
Моноциты	18.61	0.0003	3.10	0.01	2.94	0.01
Лимфоциты	10.65	0.01	2.80	0.02	1.34	0.99
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты	5.94	0.10	2.41	0.09	0.29	1.00
Агранулоциты	5.81	0.14	2.38	0.10	0.30	1.00
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						

<i>ИСЛ</i>	5.90	0.11	2.39	0.09	0.30	1.00
<i>ИСЛЭ</i>	7.01	0.07	1.32	1.00	2.17	0.17
<i>ИСГЭ</i>	2.46	0.48	1.21	1.00	0.54	0.58
<i>ИЛГ</i>	9.47	0.02	3.03	0.01	0.48	1.00
<i>ИСГЛ</i>	5.02	0.16	0.62	1.00	1.61	0.64

Примечание: *H* - критерий Краскела–Уоллиса, *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Так, самки *V. renardi* отличались повышенным содержанием в крови базофилов ($Z = 4.10$, $p = 0.002$) и моноцитов ($Z = 3.10$, $p = 0.01$), а также более низким содержанием лимфоцитов ($Z = 2.80$, $p = 0.02$) по сравнению с самками *V. berus* г. Самары, 2014 (рис. 3.6). Более низкое значение лейкоцитарного индекса *ИЛГ*, обусловленное снижением доли лимфоцитов в крови, свидетельствовало о несбалансированности иммунных ответов в организме самок степной гадюки.

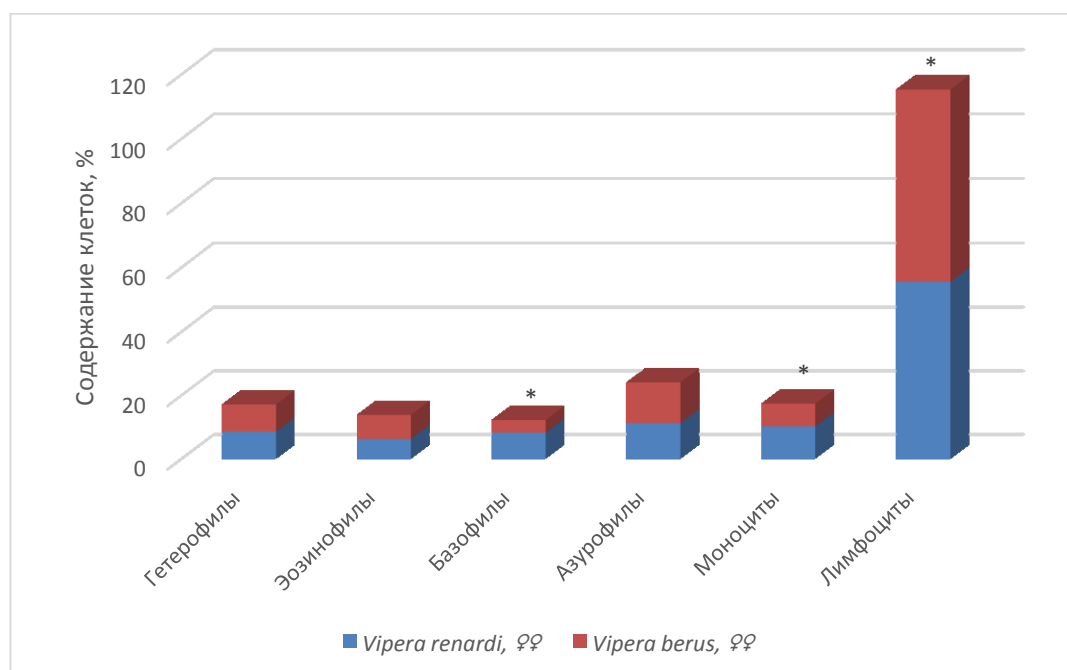


Рисунок 3.6. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови самок гадюки степной и гадюки обыкновенной (2014): по оси абсцисс – тип лейкоцитарных клеток; по оси ординат – доля клеток, %. * – статистически значимые различия

Самцы *Vipera renardi renardi* также, как и самки, имели более высокое содержание в крови базофилов ($Z = 4.23$, $p = 0.0001$), моноцитов ($Z = 2.94$, $p =$

0.01), а также пониженное содержание эозинофилов ($Z = 2.68$, $p = 0.04$) по сравнению с самцами *Vipera berus berus* г. Самары, 2014 (рис. 3.7). Отметим, лейкоцитарные индексы статистически не различались, что позволяет предполагать наличие сходных механизмов адаптации и защиты от факторов внешней среды и идентичность иммунных ответов самцов двух видов гадюк.

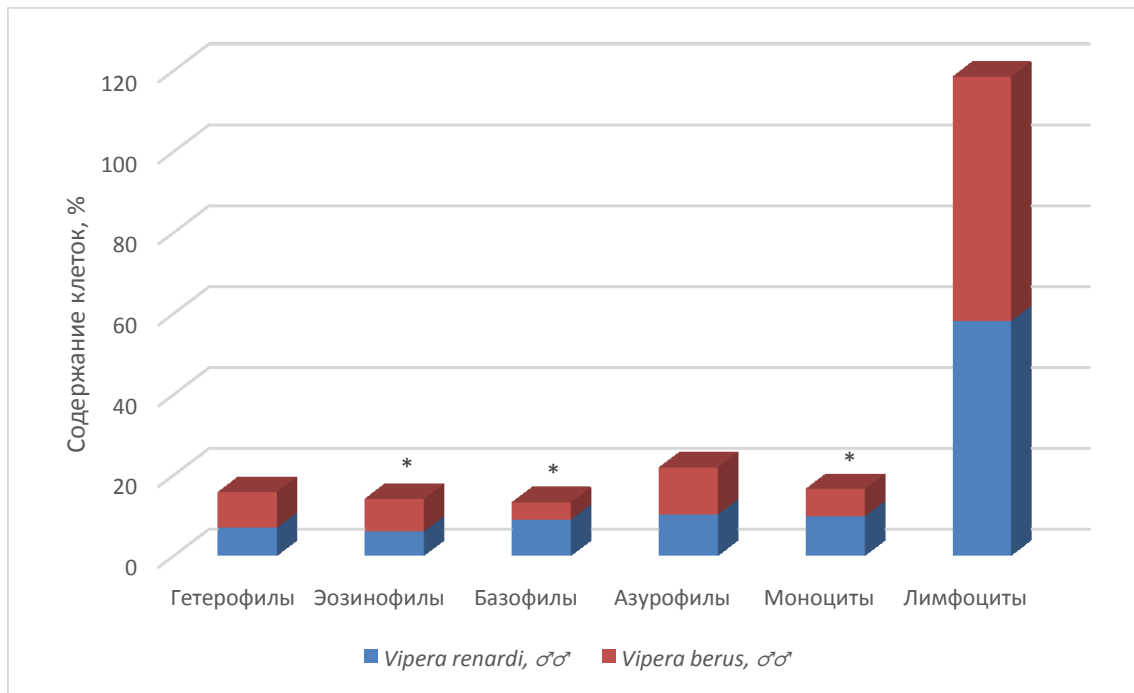


Рисунок 3.7. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови самцов гадюки степной и гадюки обыкновенной (2014): по оси абсцисс – тип лейкоцитарных клеток; по оси ординат – доля клеток, %. * – статистически значимые различия

При сравнении лейкоцитарных формул восточной степной гадюки и гадюки обыкновенной г. Самары за 2015 год обратим внимание на показатели крови самцов, численность которых была более репрезентативной, по сравнению с самками. Самцы гадюки степной отличались перераспределением соотношения гранулоцитов и агранулоцитов, а именно, более низким суммарным содержанием гранулоцитов и более высокой долей мононуклеарных клеток по сравнению с самцами гадюки обыкновенной (табл. 3.6).

Таблица 3.6

**Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови
Vipera berus berus и *Vipera renardi renardi* (2015)**

Показатель лейкограммы	N	p	Самки		Самцы	
			Z	p	Z	p
Лейкоцитарная формула крови						
Гетерофилы, %	6.08	0.10	0.34	1.00	1.89	0.34
Эозинофилы	5.44	0.14	0.82	1.00	2.15	0.18
Базофилы	1.51	0.67	0.56	1.00	0.45	1.00
Азурофилы	4.87	0.18	1.80	0.42	0.03	1.00
Моноциты	1.15	0.76	0.30	1.00	1.01	1.00
Лимфоциты	11.08	0.01	0.44	1.00	3.26	0.006
Суммарное содержание клеток						
Гранулоциты	9.07	0.02	0.94	1.00	2.83	0.02
Агранулоциты	8.94	0.03	0.96	1.00	2.81	0.02
Лейкоцитарные индексы						
ИСЛ	9.06	0.02	2.39	0.95	2.83	0.02
ИСЛЭ	11.01	0.01	1.11	1.00	3.10	0.01
ИСГЭ	5.33	0.14	1.43	0.90	1.26	1.00
ИЛГ	10.87	0.01	0.87	1.00	3.15	0.009
ИСГЛ	8.49	0.03	0.35	1.00	2.54	0.06

Примечание: *N* - критерий Краскела–Уоллиса, *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

В лейкограммах крови самцов степной гадюки сохранялся лимфоцитарный профиль, что наглядно подтверждалось разнонаправленным изменением лейкоцитарных индексов *ИСЛ* и *ИЛГ*, иллюстрирующий активацию и сбалансированность адаптационных механизмов организма гадюк к комплексу факторов среды обитания. Поскольку именно лимфоциты являются ведущим звеном реакций адаптации, то снижение индекса *ИСЛ* ($Z = 2.83$, $p = 0.02$) (рис. 3.8) и возрастание индекса *ИЛГ* ($Z = 3.15$, $p = 0.009$) (рис. 3.9) можно рассматривать как показатели активного и при этом

адекватного и своевременного иммунного ответа организма гадюки степной по сравнению с гадюкой обыкновенной.

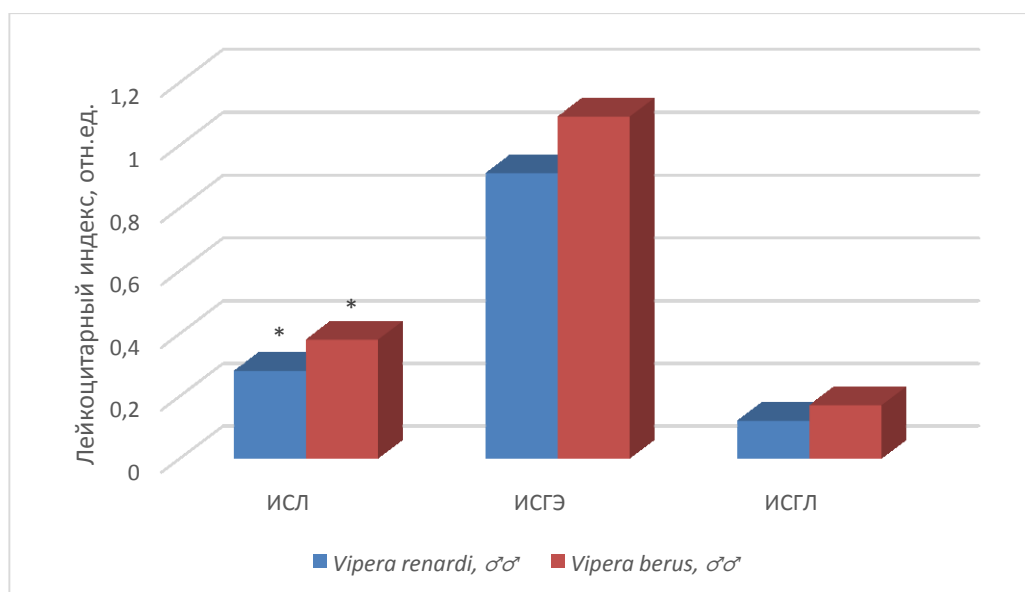


Рисунок 3.8. Сравнительный анализ лейкоцитарных индексов крови самцов гадюки степной и гадюки обыкновенной (2015): по оси абсцисс – величина индекса; * – статистически значимые различия

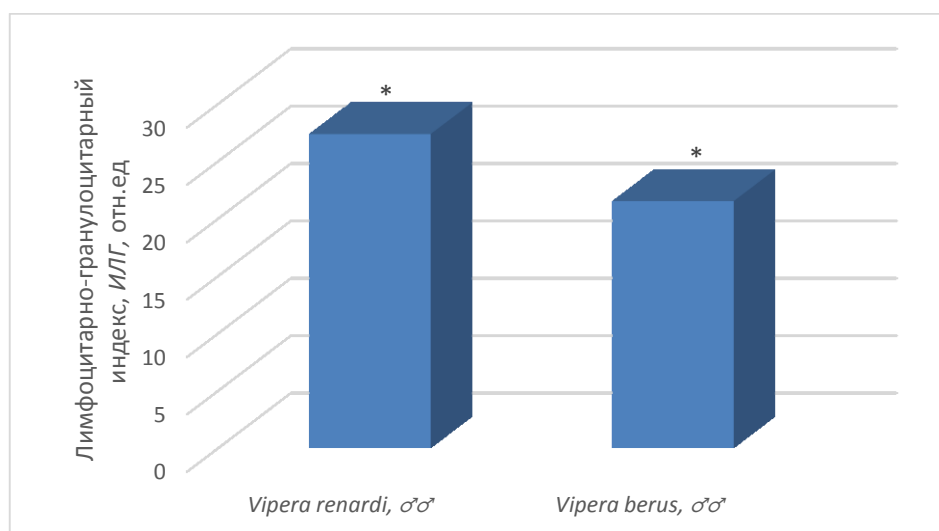


Рисунок 3.9. Сравнительный анализ лимфоцитарно – гранулоцитарного индекса крови самцов гадюки степной и гадюки обыкновенной (2015): по оси абсцисс – величина индекса; * – статистически значимые различия

При проведении классификации выборок гадюки обыкновенной и гадюки степной методом главных компонент в качестве переменных использовали интегральные показатели: сумму гранулоцитов и агранулоцитов и лейкоцитарные индексы. По критерию Кеттела и графику

каменистой осыпи были выделены две главные компоненты (факторные оси). Первая факторная ось, соответствовала максимальному собственному значению 85,13 и описывала 94,34 % общей дисперсии. Вторая факторная ось для значения 5,11 описывала 5,66 % общей вариации. Наиболее значимый вклад в первую факторную ось вносили лейкоцитарные индексы *ИСЛЭ* и *ИЛГ* (сильные отрицательные корреляции). Вторая факторная ось имела сильную положительную корреляцию с переменной агранулоциты и сильную отрицательную корреляцию с переменной гранулоциты (рис. 3.10).

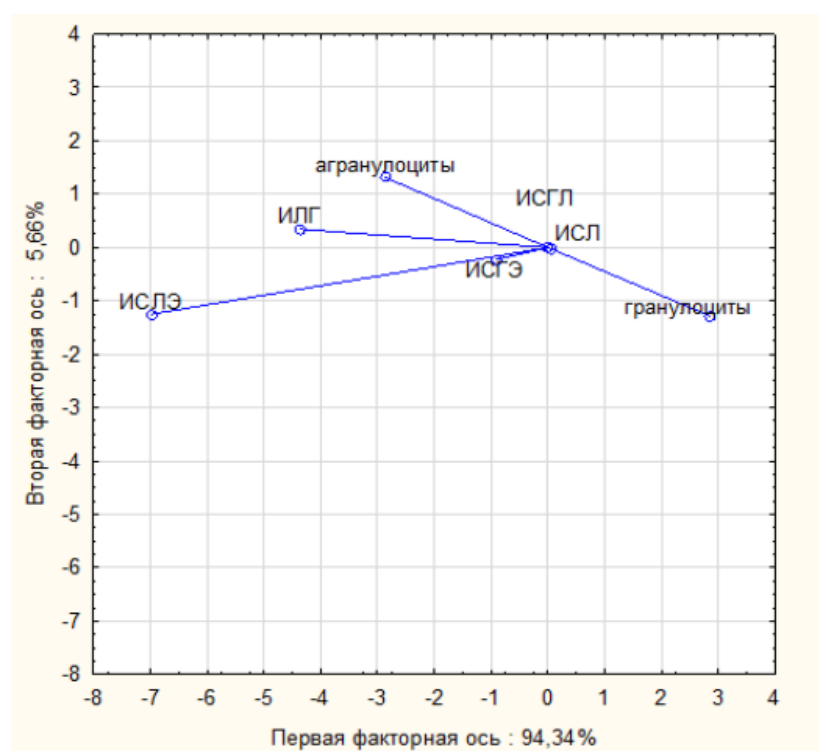


Рисунок 3.10. График факторных координат, построенный на основе интегральных лейкоцитарных показателей крови гадюк

График рассеяния исследованных выборок в пространстве двух первых главных компонент (рисунок 3.10) визуализировал межвидовые и межгодовые различия в лейкоцитарном профиле гадюк. В лейкограммах гадюковых змей различия по полу выражены гораздо слабее, чем по местообитанию.

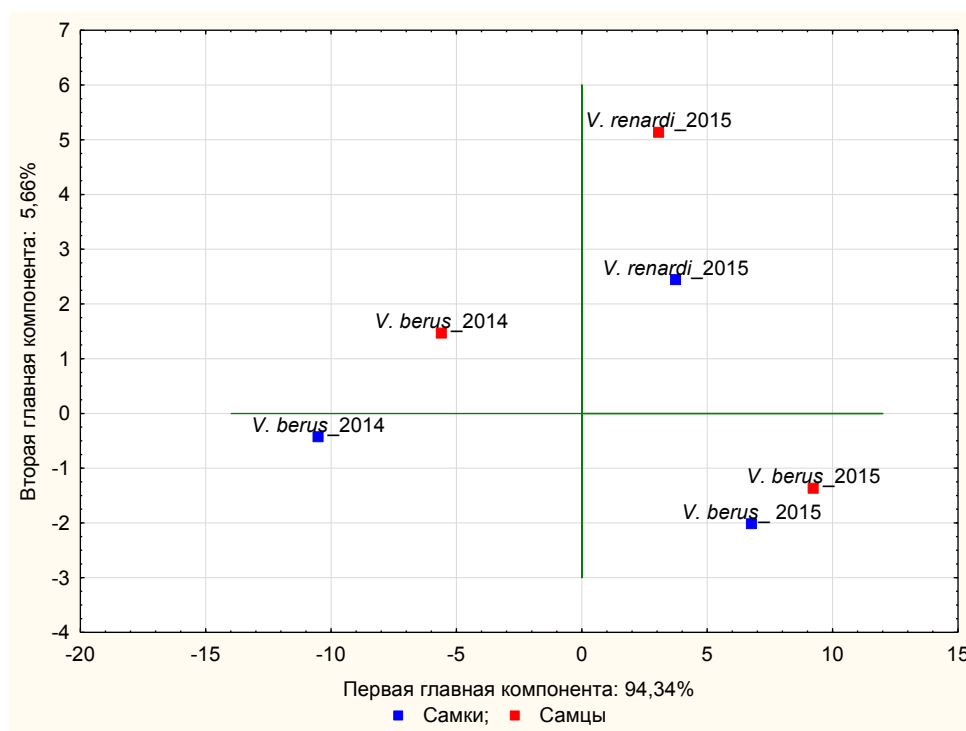


Рисунок 3.11. График рассеяния исследованных выборок ядовитых змей в пространстве двух первых главных компонент

Самцы и самки восточной степной гадюки располагались в первом квадранте отдельно от выборок гадюки обыкновенной, т.е. имели положительные значения координат по первой факторной оси, что иллюстрировало активацию специфических реакций иммунной системы и сбалансированность адаптационных механизмов организма гадюки степной к комплексу факторов среды обитания. Анализ совокупности интегральных лейкоцитарных показателей показал и годовую изменчивость параметров лейкоцитарной системы гадюки обыкновенной. Перемещение самок и самцов из второго и третьего квадрантов в четвертый квадрант факторного пространства свидетельствовало о снижении специфических реакций иммунной системы организма гадюк обыкновенной, что компенсировалось повышением неспецифической защитной системой крови (содержание гранулоцитов) и обеспечивало устойчивое функционирование организма рептилий. 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. В лейкограммах крови степной гадюки сохранялся лимфоцитарный профиль, выявлена активация и сбалансированность адаптационных механизмов организма к комплексу факторов среды обитания.

Резюме. В выборке из популяции гадюки обыкновенной выявлено снижение специфической реакции иммунной системы организма (самцы, самки) и возрастание доли моноцитов (самцы), обеспечивающее адаптивное функционирование организма гадюк в специфических условиях внешней среды в период наблюдений. Методом многомерного дисперсионного анализа показало значимый эффект факторов: вид гадюк и год исследования. В целом установлены статистически значимые межвидовые различия по отдельным лейкоцитарным показателям крови восточной степной гадюки в сравнении с лейкоцитарным профилем гадюки обыкновенной.

Анализ лейкограмм гадюковых змей иллюстрирует более выраженные различия по биотопической приуроченности, чем по полу, что свидетельствует о влиянии комплекса абиотических факторов естественной среды обитания на формирование адаптивного ответа системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов, обеспечивающих сильные неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции.

ГЛАВА 4. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ СЕМЕЙСТВА COLUBRIDAE ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

В настоящей главе диссертации представлена сравнительная оценка интегральных лейкоцитарных показателей крови неядовитых змей семейства Colubridae, обитающих в разных биотопических условиях ареала: узорчатого полоза *Elaphe dione* (Pallas, 1773) охраняемой территории, заповедник «Оренбургский», ужа обыкновенного *Natrix natrix* и ужа водяного *Natrix tessellata* из популяций Северного и Восточного Прикаспия. В доступных источниках отсутствуют материалы по сравнительному изучению адаптивных реакций системы крови неядовитых змей. Между тем, использование гематологического подхода для оценки состояния природных популяций животных, в том числе и змей (Воробьева, 2001; Salakij et al., 2002; Davis et al., 2008; Хайрутдинов, Соколина, 2010; Бакиев и др., 2015; Романова и др., 2016, 2017), на территориях с разной антропогенной трансформацией, имеет большой научный потенциал и позволяет выявить количественно–качественные изменения иммунологических показателей крови, обеспечивающих устойчивое функционирование организма под воздействием комплекса биотических и абиотических факторов среды, что необходимо для повышения численности и сохранения уязвимых видов.

4.1. Лейкоцитарный состав крови узорчатого полоза (*Elaphe dione* Pallas, 1773) (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский»

Узорчатый полоз *Elaphe dione* (Pallas, 1773), являясь одним из наиболее широко распространенных видов змей палеарктической фауны, включен в Красный список МСОП с категорией Least Concern (Aghasyan et al., 2017). Через Оренбургскую область проходит северная граница ареала этого вида (Дебело, Чибилев, 2013), занесенного в областную Красную книгу с категорией статуса редкости 3 (Постановление Правительства..., 2014). По ориентировочной оценке, на территории Оренбуржья обитает несколько

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀ (n = 8)		Самцы, ♂♂ (n = 10)		Статистические показатели	
	Me	IQR	Me	IQR	U	p
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	9.50	3.00	7.50	2.00	2.08	0.03
Эозинофилы, %	11.50	5.00	13.00	9.00	2.31	0.02
Базофилы, %	6.50	2.50	10.00	4.00	2.08	0.003
Азурофилы, %	12.00	5.50	11.00	4.00	0.26	0.79
Моноциты, %	9.50	2.00	4.00	3.00	3.33	0.0008
Лимфоциты, %	53.50	6.00	50.00	9.00	1.11	0.26
<i>Суммарное содержание клеток</i>						

Гранулоциты (Σ)	27.00	6.00	33.00	13.00	2.08	0.03
Агранулоциты (Σ)	73.00	6.00	67.00	13.00	2.08	0.03
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.37	0.11	0.49	0.28	2.08	0.03
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	4.82	2.87	3.69	2.00	2.39	0.01
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.84	1.04	0.50	0.42	2.71	0.006
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	19.80	6.05	16.31	7.30	1.82	0.06
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.18	0.06	0.13	0.06	1.33	0.18

Примечание: *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

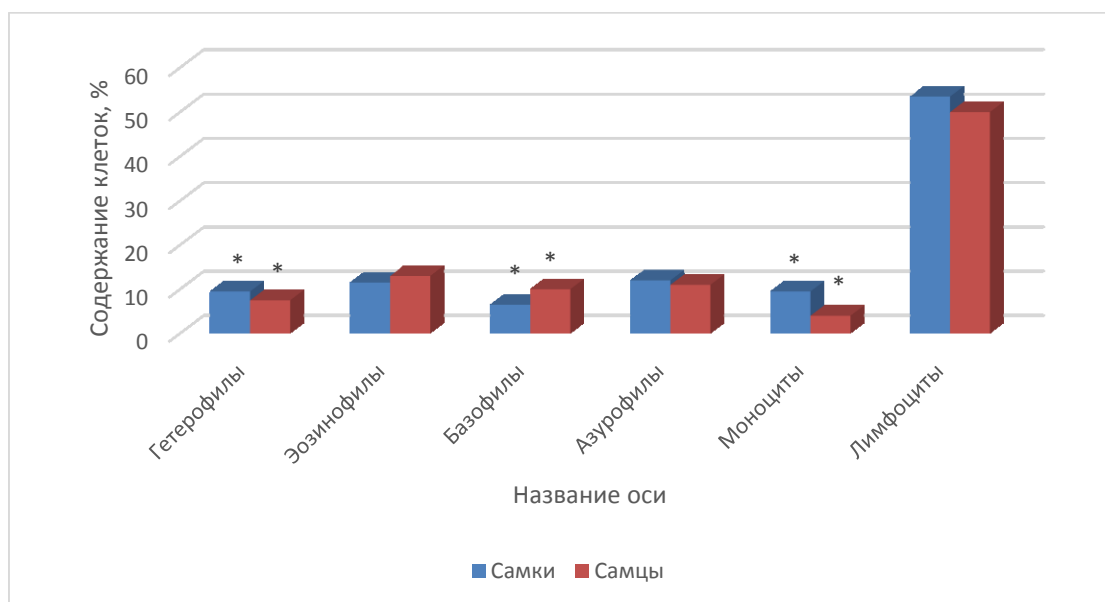


Рисунок 4.1. Сравнительный лейкоцитарный состав крови самцов и самок узорчатого полоза *Elaphe dione*

Среди агранулоцитов показательны результаты, полученные при количественном определении моноцитов. Доля этих клеток в крови самок более чем в два раза превышала аналогичный показатель периферической крови самцов ($U = 3.33$, $p = 0.0008$). Межполовые различия в лейкоцитарном составе клеток крови подтверждались и непараметрическим критерием

корреляции (ассоциации) Спирмена (ρ). Наиболее сильную ассоциацию с качественным признаком (полом особи) обнаружили моноциты ($\rho = 0.82$, $R^2 = 0.67$, $p = 0.001$). Гетерофилы, базофилы и эозинофилы характеризовались умеренной ассоциацией с полом (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Взаимосвязь показателей лейкоцитарной формулы с половой принадлежностью особей узорчатого полоза *Elaphe dione*

Показатели лейкограммы, %	Статистические показатели		
	R^2 – коэффициент детерминации	ρ – коэффициент корреляции	p – уровень значимости
Гетерофилы	0.27	0.52	0.026
Базофилы	0.26	0.51	0.03
Эозинофилы	0.33	0.58	0.01
Азуофилы	0.01	0.10	0.68
Моноциты	0.67	0.82	0.001
Лимфоциты	0.08	0.29	0.23

Примечание: жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

Известно, что лейкоцитарные клетки периферической крови рептилий ответственны за проявление как реакций врожденного (естественного) иммунитета (гетерофилы, базофилы эозинофилы, моноциты), так и адаптивного (приобретенного) иммунного ответа (лимфоциты). Моноциты, являясь крупными мононуклеарными клетки, выполняют фагоцитирующую и антигенпрезентирующую роль и, кроме того, продуцируют эндогенные регуляторы иммунного ответа – цитокины (Coico et al., 2003). Гетерофилы помогают подавить микробное вторжение, участвуют в формировании воспалительной реакции, фагоцитозе, обеспечивают защиту организма при инфекциях и стрессе (Jain, 1993; Campbell, 1996). Эти гранулоциты подготавливают условия в организме для дальнейшей реализации клеточно-опосредованного или гуморального иммунного ответа. Высокое содержание базофилов и эозинофилов в крови может свидетельствовать о паразитарных инвазиях. У рептилий эозинофилы участвуют в фагоцитозе иммунных комплексов, образующихся в присутствии паразитов; базофилы реагируют дегрануляцией, высвобождая гистамин (Sypek et al., 1984; Coico et al., 2003). В целом анализ лейкоцитарных формул крови узорчатого полоза *Elaphe dione*

свидетельствовал об активации естественного иммунитета самок узорчатого полоза по сравнению с самцами.

Межполовые различия выявлены и в размерах гранулоцитов крови при определении площади поверхности лейкоцитарных клеток полоза узорчатого. Так, гранулоциты самок оказались несколько меньше гранулоцитов самцов: гетерофилы – в 1.33 раза ($U = 2.38$, $p = 0.017$), базофилы – в 1.25 раза ($U = 2.75$, $p = 0.005$), эозинофилы – в 1.85 раза ($U = 3.28$, $p = 0.001$) (табл. 4.3).

Таблица 4.3

Площадь поверхности (мкм²) клеток лейкоцитарного ряда крови узорчатого полоза *Elaphe dione*

Статистические показатели	Гетерофилы	Базофилы	Эозинофилы	Азурофилы	Моноциты	Лимфоциты
Самки						
<i>M</i>	103.27	74.06	110.42	114.35	124.32	56.23
<i>m</i>	8.27	4.33	11.13	9.65	8.06	4.33
Самцы						
<i>M</i>	138.14	92.68	204.75	131.39	117.10	73.36
<i>m</i>	8.76	3.31	23.67	12.88	10.83	6.76
Статистические различия						
<i>U</i>	2.38	2.75	3.28	1.09	0.56	1.92
<i>p</i>	0.017	0.005	0.001	0.273	0.570	0.053

Примечание: *M* – среднее арифметическое, *m* – ошибка среднего арифметического, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

Статистически значимых различий по морфометрическим показателям мононуклеарных клеток (азурофилов, моноцитов и лимфоцитов) между самцами и самками полоза узорчатого не выявлено.

Отклонения в лейкоцитарном составе периферической крови позвоночных животных, в том числе и рептилий, отражает физиологическое состояние животных при разнообразных стрессовых воздействиях. В качестве показателей, подтверждающих состояние особей использовалось несколько интегральных показателей: индекс сдвига лейкоцитов (*ИСЛ*), индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (*ИСЛЭ*), индекс соотношения

гетерофилов и эозинофилов (*ИСГЭ*) и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (*ИЛГ*). Лейкоцитарные индексы считаются объективными индикаторами воздействия на иммунный статус организма животных, поскольку отражают взаимосвязи клеток крови и характеризуют работу эффекторных механизмов иммунной системы (Sabagna et al., 2005; Ткаченко, Дерхо, 2014) и довольно широко используется в экологических мониторинговых работах (Житенева и др., 1997; Романова и др., 2015).

Информативным показателем реактивности организма является индекс сдвига лейкоцитов (*ИСЛ*), представляющим собой отношение суммарного содержания гранулоцитов к агранулоцитам. Отклонение *ИСЛ* от условной нормы является признаком заболеваний, различных интоксикаций и негативного влияния окружающей среды. Проведенный расчет *ИСЛ* подтвердил внутривидовые межполовые различия в лейкоцитарном профиле узорчатого полоза. При этом более высокий показатель *ИСЛ* для самцов, по сравнению с самками (рис. 4.2), отражал дополнительно прирост в периферической крови доли базофилов, эозинофилов и снижение доли моноцитов, что могло быть связано с присутствием паразитов. Значимое снижение *ИСЛ*, установленное для самок узорчатого полоза ($U = 2.08$, $p = 0.03$), подтверждало более выраженную активацию иммунных реакций по сравнению с самцами за счет относительного содержания гетерофилов и моноцитов, отвечающих за повышение защитной функции крови в условиях воздействия комплекса факторов окружающей среды. Низкие значения индексов *ИСЛЭ* и *ИСГЭ* для самцов по сравнению с самками обуславливались приростом в периферической крови доли эозинофилов.

Как гематологический параметр стресса используется и индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*), предоставляющий данные о количественном изменении в лейкоцитарном звене иммунной системы и скоррелированный с уровнем гормонов стресса в крови животных (Davis et al., 2008). Отсутствие различий в показателе *ИСГЛ* ($U = 1.33$, $p = 0.18$) между самками и самцами, свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и

идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме животных в условиях особо охраняемой природной территории. Отметим сильную положительную корреляционную статистическую взаимосвязь содержания гетерофилов (%) в крови и лейкоцитарного индекса, *ИСГЛ* ($\rho = 0.97$, $p = 0.001$), по сравнению с другими типами лейкоцитов и интегральными индексами, что иллюстрировало более весомый вклад неспецифической защитной системы крови в адаптивные реакции организма. Установлена ассоциативная статистическая взаимосвязь индексов: *ИСЛ* ($\rho = 0.56$, $p = 0.015$), *ИСЛЭ* ($\rho = 0.51$, $p = 0.02$), *ИСГЭ* ($\rho = 0.64$, $p = 0.004$) и *ИЛГ* ($\rho = 0.50$, $p = 0.03$) с полом животного.

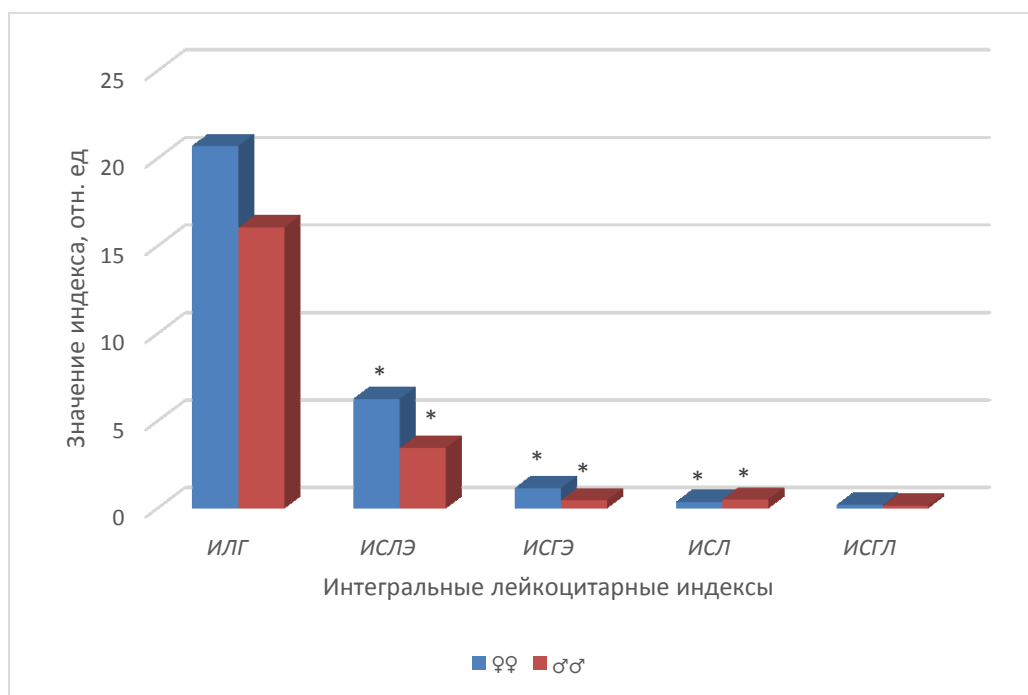


Рисунок 4.2. Значение интегральных лейкоцитарных индексов для самок и самцов *Elaphe dione*

* - статистически значимые отличия

Результаты проведенного исследования расширяют наши представления об особенностях морфологического состава крови рептилий и закономерностях изменения общей реакции организма рептилий в условиях среды обитания. Любые воздействия, изменяющие иммунологическую реактивность организма, могут нарушать формирование механизмов гомеостатического равновесия в системе «организм-среда» и отражаются на

лейкоцитарном профиле крови животных. Для поддержания гомеостаза организма в специфичных условиях обитания рептилии (в том числе и узорчатый полоз) используют набор универсальных эффекторных клеток, представленный гетерофилами, эозинофилами, базофилами и мононуклеарами (азурофилами, моноцитами, лимфоцитами) (Jain, 1993; LeBlanc et al., 2000). У исследованной выборки не выявлены признаки стресс-индуцированной реакции лейкоцитов, маркером которой является повышение доли гетерофилов и снижение доли лимфоцитов (Sabagna et al., 2005; Davis & Maerz, 2008). Совокупность реакций неспецифической естественной защитной системы организма (содержание гетерофилов, эозинофилов), как и модуляция специфической иммунной защиты (содержание лимфоцитов), отвечающей за синтез иммуноглобулинов (Campbell, 1996, 2004), обеспечивала устойчивое функционирование организма узорчатых полозов, обитающих на особо охраняемой природной территории.

Таким образом, лейкоцитарная формула крови и динамика лейкоцитарных индексов крови узорчатого полоза из заповедника «Оренбургский» отражали активный отклик организма на комплекс экологических факторов среды, с наиболее выраженной активацией иммунных процессов у самок по сравнению с самцами. У самок по сравнению с самцами в периферической крови выше доля гетерофилов и моноцитов, но ниже доля базофилов и эозинофилов. Гетерофилы, базофилы и эозинофилы характеризовались умеренной ассоциацией, а моноциты сильной ассоциацией ($\rho = 0.82$, $R^2 = 0.67$, $p = 0.001$) с качественным признаком (полом особи). Морфометрические показатели клеток гранулоцитарного ряда самцов превышали аналогичные показатели самок. Отсутствие различий в интегральных показателях соотношения гетерофилов и лимфоцитов самцов и самок ($U = 1.33$, $p = 0.18$), свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических

механизмов адаптации, протекающих в организме животных в особо охраняемых условиях среды обитания.

4.2. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae) из разных популяций

В рамках пространственной модели на примере широко распространенного вида – ужа обыкновенного выявлены различия лейкоцитарного профиля крови особей, что указывает на специфику адаптивных реакций вида к конкретным абиотическим условиям (особенностям рельефа и климата) географически удаленных локалитетов.

4.2.1. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758) из Мордовского государственного природного заповедника им. П. Г. Смидовича, МГЗ (Россия)

На территории Мордовии уж обыкновенный *Natrix natrix* Linnaeus, 1758 является обычным и массовым видом, ведет амфибионтный образ жизни, предпочитая влажные местообитания: берега рек, озер и прудов, пойменные луга, овраги, болота, сырые леса (Астрадамов и др., 2002; Ручин, Рыжов, 2003; Ручин и др., 2003, 2005; Бакиев и др., 2004, 2009 и др.). Возрастающий пресс антропогенной и рекреационной нагрузки приводит к сокращению численности этих эктотермных животных. Несмотря на обилие литературных данных по экологии и особенностям жизненного цикла ужеобразных змей рода *Natrix* Волжского бассейна (Чугуевская, 2005; Табачишин, Табачишина, 2002; Шляхтин, Табачишин, Завьялов, 2005; Бакиев и др., 2009; Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011; Гордеев, 2012; Кленина, Бакиев, 2015; Кленина и др., 2015), исследований по изучению системы крови ужей при различных воздействиях недостаточно.

Хорошо известно, что в развитии защитных реакций организма в условиях изменения среды обитания основную роль играют лейкоциты, поэтому для оценки состояния животных и качества среды обитания

используют иммунологические и гематологические подходы (Чернышова, Старостин, 1994; Пескова, 2004; Акуленко, 2014; Романова и др., 2017 и др.). Показано, что сезонное перераспределение лейкоцитарного состава, способствует выживанию животных в неблагоприятных условиях среды (Воробьева, 2007) и в измененных условиях урбанизированной среды (Самарская область) наблюдается изменение баланса лейкоцитарных клеток в крови настоящих ужей (Романова и др., 2014, 2015).

Методология настоящей работы основывается на исследовании формулы крови наиболее представленного в Мордовском заповеднике вида змей (ужа обыкновенного), что позволяет с аутоэкологической точки зрения оценить состояние иммуногематологических показателей организма в условиях природоохранной зоны.

Отлов ужа обыкновенного проводился на территории Мордовского государственного природного заповедника им. П.Г. Смидовича, расположенного в Темниковском районе Республики Мордовия, на правом берегу реки Мокша, на границе зоны хвойно-широколиственных лесов и лесостепи. Для исследования были выбраны три участка: пос. Пушта (оз. Вальза), кордоны Павловский (пруд Павловский) и Инорский (озеро Инорское). Все работы проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012).

Вначале отметим, что состав лейкограмм периферической крови ужа обыкновенного из трех участков Мордовского заповедника характеризовался преобладанием агранулоцитов (69 – 73%), при этом доля гранулоцитов составляла 31 – 37%.

Различие в процентном содержании агранулоцитов и гранулоцитов подтверждалось статистически значимым критерием Манна-Уитни ($U = 1.99$, $p = 0.04$). Внутри пулов агранулоцитов и гранулоцитов в лейкоцитарном составе крови между выборками из различных участков заповедной зоны значимых различий не выявлено (табл. 4.4).

Таблица 4.4

**Лейкоцитарный состав периферической крови ужа обыкновенного
Natrix natrix Мордовского заповедника**

Показатель лейкограммы	1. Кордон Инорский (20 особей)		2. Пос. Пушта (8 особей)		3. Кордон Павловский (9 особей)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>H</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>								
Гетерофилы, %	6.50	2.75	9.50	3.25	7.00	6.50	3.04	0.21
Эозинофилы, %	8.00	1.75	8.50	5.75	7.00	4.00	0.15	0.92
Базофилы, %	14.00	5.75	13.50	6.25	11.00	8.00	0.23	0.89
Азурофилы, %	6.00	4.50	7.50	2.50	4.00	3.00	5.82	0.054
Моноциты, %	9.50	3.00	9.00	1.50	11.00	1.50	3.10	0.21
Лимфоциты, %	58.00	8.00	50.50	10.25	60.00	9.50	1.62	0.44
<i>Суммарное содержание клеток</i>								
Гранулоциты (Σ)	28.00	9.00	32.00	19.00	28.00	19.00	0.48	0.78
Агранулоциты (Σ)	72.00	9.00	68.00	19.00	72.00	19.00	0.48	0.78

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *H* – критерий Краскела-Уоллиса; *p* – уровень значимости.

Эллипсовидные лейкоцитарные клетки ужа обыкновенного существенно различались по размерам. По усредненному показателю площади поверхности (мкм^2) лейкоцитарные клетки ужа обыкновенного расположились в следующем порядке: эозинофилы – моноциты – азурофилы, базофилы – гетерофилы – лимфоциты. Диаметр наиболее крупных клеток – эозинофилов – варьировался от 13 до 22 мкм. Самыми мелкими оказались лимфоциты с диаметром (7.22 ± 1.21) мкм (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Линейный размер (мкм) и площадь поверхности (мкм²) лейкоцитов периферической крови ужа обыкновенного *Natrix natrix*

Лейкоциты (n=486)	<i>M</i>	<i>s</i>	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>S</i>
Гетерофилы	9.71	1.39	13	7	60.59 ±1.62
Базофилы	10.58	2.14	14	6	75.82 ±3.49
Эозинофилы	17.50	2.42	22	13	205.38 ±5.91
Азурофилы	10.84	1.17	14	8	77.41 ±1.80
Моноциты	11.28	1.38	15	9	84.63 ±2.28
Лимфоциты	7.22	1.21	10	5	35.16 ±1.46

Примечание: *M* – среднее арифметическое (мкм); *min* – минимальное значение; *max* – максимальное значение; *s* – стандартное отклонение; *m* – ошибка средней арифметической; *S* – площадь поверхности клеток ($M \pm m$) (мкм²)

Отсутствие значимых различий в формулах крови исследованных выборок позволило нам объединить показатели и получить популяционную картину лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного, обитающего на территории Мордовского заповедника (рис. 4.3).

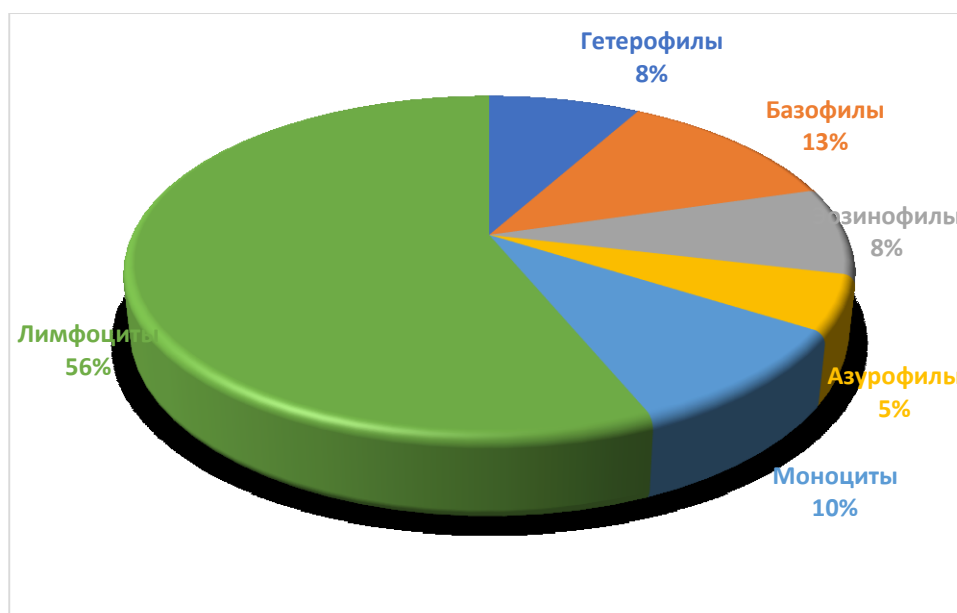


Рисунок 4.3. Формула крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* Мордовского заповедника

Определение лейкоцитарной формулы является необходимой составной частью оценки общего состояния организма, хотя отдельные ее

показатели не дают целостного представления о реакциях системы крови на воздействие различных факторов. Поэтому для интегральной оценки состояния системы крови были использованы лейкоцитарные интегральные индексы, отражающие взаимосвязи клеток крови и работу эффекторных механизмов иммунной системы.

Большинство лейкоцитарных интегральных индексов (*ИСЛ*, *ИСЛЭ*, *ИСГЭ*, *ИЛГ*) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови ужа обыкновенного трех участков заповедника за исключением повышенного значения индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов (*ИСГЛ*) выборки пос. Пушта (табл. 4.6), считающимся мерой стресса у животных (Davis et al., 2008). Возрастание этого показателя позволяет заключить, что *Natrix natrix*, отловленный в районе пос. Пушта, испытывает дополнительное стрессорное воздействие.

Таблица 4.6

Значение интегральных индексов периферической крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* Мордовского заповедника

Статистический показатель	<i>ИСЛ</i>	<i>ИСЛЭ</i>	<i>ИСГЭ</i>	<i>ИЛГ</i>	<i>ИСГЛ</i>
1. Кордон Инорский (20 особей)					
<i>Me</i>	0.39	7.90	0.94	20.38	0.12
<i>IQR</i>	0.15	3.18	0.48	8.56	0.07
2. Пос. Пушта (8 особей)					
<i>Me</i>	0.48	7.18	1.09	15.99	0.20
<i>IQR</i>	0.32	6.91	0.49	15.35	0.07
3. Кордон Павловский (9 особей)					
<i>Me</i>	0.39	7.86	1.00	21.43	0.11
<i>IQR</i>	0.27	6.29	0.62	16.12	0.14
<i>H</i>	0.55	0.19	1.27	0.89	7.02
<i>p</i>	0.75	0.90	0.52	0.64	0.02
<i>Z₁₋₂</i>	-	-	-	-	2.43
<i>p</i>	-	-	-	-	0.04

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *H* – критерий Краскела-Уоллиса; *Z* – критерий Данна; *p* – уровень значимости.

Для уточнения и анализа лейкоцитарного профиля обыкновенного ужа заповедной зоны (Мордовский заповедник) и урбанизированной территории

(с. Мордово, Самарская обл.) (Романова и др., 2015) мы воспользовались методом главных компонент и рассчитали несколько новых признаков, линейных индексов (главных компонент). С вычислительной точки зрения количество главных компонент равно числу исходных переменных, но обычно основная доля информации, позволяющая различать объекты, «концентрируется» в гораздо меньшем числе компонент, которые и рассматриваются как их полноценная характеристика. Участие компонент в дифференциации лейкоцитарного профиля рептилий, отловленных в сопоставимый срок активности (конец июня), было неодинаково.

Первая главная компонента (факторная ось), соответствующая собственному значению 19.86, описывала приблизительно 76.54 % общей дисперсии и ее роль выше, чем других по информационной насыщенности. Вторая компонента (факторная ось), соответствующая собственному значению 5.38, описывала 20.75 % оставшейся дисперсии, ее роль меньше, чем первой компоненты, а третья – описывала 2.70 % оставшейся дисперсии, её, как и все последующие, по всей видимости, не целесообразно использовать в дальнейшем рассмотрении.

Первая факторная ось наиболее сильно коррелировала с содержанием в крови ужей моноцитов (сильная отрицательная корреляция), азурофилов и гетерофилов (сильная положительная корреляция). Вторая факторная ось имела сильную положительную корреляцию с содержанием лимфоцитов. График лейкоцитарного профиля в пространстве выделенных главных компонент показывал, насколько хорошо каждая переменная воспроизводилась в найденной системе координат (рис. 4.4).

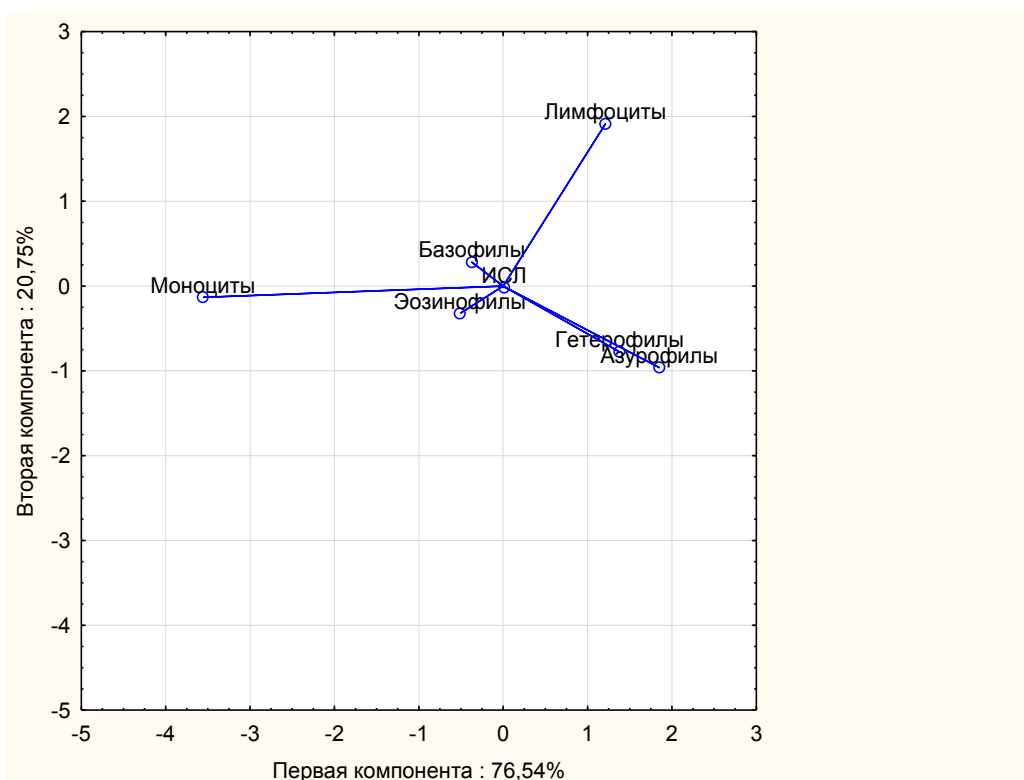


Рисунок 4.4. Показатели лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного в пространстве главных компонент

Таким образом, были определены факторные оси в пространстве меньшей размерности, на которые были проецированы анализируемые лейкоцитарные показатели. Относительный вклад переменных в дисперсию факторной оси пропорционален их факторным нагрузкам: наибольший относительный вклад в первую главную компоненту вносили моноциты, а во вторую – лимфоциты.

На графике наблюдений в факторном пространстве исследованные выборки ужа обыкновенного распределились в разных областях плоскости (рис. 4.5). Все выборки ужа обыкновенного с заповедной территории (Мордовский государственный заповедник) сгруппировались в одном кластере, расположенном во втором и третьем квадрантах, т.е. имели отрицательные значения по первой главной компоненте и объединялись в области переменной «моноциты».

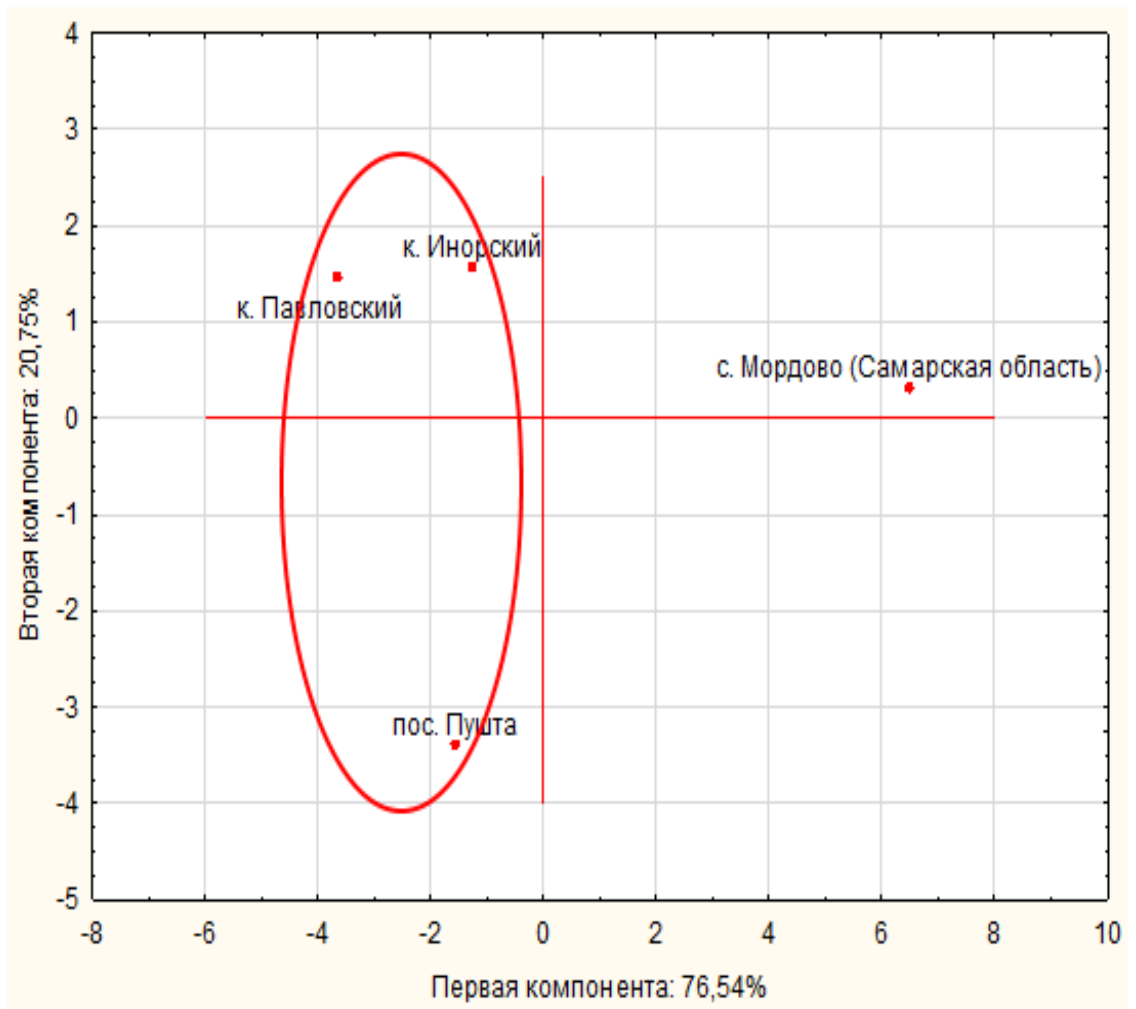


Рисунок 4.5. График рассеивания выборок обыкновенного ужа в пространстве главных компонент

Красным овалом выделены участки Мордовского природного заповедника.

Расположение выборки ужа обыкновенного из пос. Пушта (оз. Вальза) в третьем квадранте, удаленно от выборок кордонов Инорский и Павловский, обуславливалось изменением соотношения баланса лейкоцитарных клеток, за счет усиленного антропогенного давления (рыбалка, купание, движение пешеходов и автотранспорта) по сравнению с другими участками заповедника. Следует отметить, что оценка флуктуирующей асимметрии признаков фоллидоза ужа обыкновенного *Natrix natrix* этой выборки (28.6) выявила более высокие показатели средней частоты асимметричного проявления на признак по сравнению с особями Павловского (0.14) и Инорского (0.17) кордонов (Елисеева, Ениватова, 2020). Известно, что степень симметрии определяется всей совокупностью антропогенных и

естественных экологических факторов, действующих на развитие организмов (Лада и др., 2012) и отражает стабильность развития организма в целом. Снижение этого показателя у ужа обыкновенного пос. Пушта свидетельствовало и о снижении качества условий их местообитания.

Выборка из популяции обыкновенного ужа урбанизированной территории (Самарская область) занимала первый квадрант, т.е. имела положительные значения как по первой, так и по второй компоненте и располагалась в области переменной «лимфоциты». Влияние комплекса факторов урбанизированной среды на показатели лейкоцитарной системы крови ужа преимущественно отражалось на перераспределении баланса агранулоцитов, а именно, повышении специфической реакции иммунной системы (содержание лимфоцитов) и снижении активности моноцитов, отражающих адаптивный ответ.

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). Результаты анализа показывают, что при интерпретации данных лейкоцитарного состава крови рептилий особое внимание следует обращать на количественное перераспределение агранулоцитов, в первую очередь, моноцитов. Известно, что у рептилий врожденная система иммунитета, представленная гуморальными факторами, и набором лейкоцитов (моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами) характеризуется более высоким развитием и эффективной реакцией на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами. Отметим, что моноциты, наряду с макрофагами являются фагоцитами, которые обрабатывают и представляют антигены, а также высвобождают гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий (Coico et al., 2003; Davis et al., 2004; Arican, Cicek, 2010) обеспечивая клеточные механизмы неспецифической резистентности (Davis et al., 2004) и формирования у рептилий реакции

воспаления. Интенсивность развития воспалительной реакции определяется оптимальной для вида температурой окружающей среды, ниже и выше которой эффективность формирования реакции снижается (Kluger et al., 1975; Merchant et al., 2007), что иллюстрирует сложный характер взаимосвязи активации неспецифических факторов резистентности рептилий, как эктотермных животных, с абиотическими условиями среды обитания.

Таким образом, получены популяционные показатели лейкоцитарной формулы и лейкоцитарных индексов крови обыкновенного ужа из Мордовского природного заповедника. Отсутствие различий в количественном содержании всех типов гранулоцитов и агранулоцитов в крови обыкновенного ужа из разных участков заповедника, свидетельствовало о сопоставимом уровне адаптационных механизмов, протекающих в организме животных в условиях среды обитания.

Использованный метод многомерной статистики позволил получить более полное количественное описание лейкоцитарного состава объектов исследования и представить полученные показатели в наглядном, интегрированном и обобщенном виде, а также провести сравнительный анализ выборок обыкновенного ужа разных местообитаний.

4.2.2. Оценка лейкоцитарного профиля крови ужа обыкновенного (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758) Северного Прикаспия

В лейкоцитарном профиле ужа обыкновенного *N. natrix* Северного Прикаспия. были выявлены межполовые различия, проявляющиеся в разнонаправленных изменениях содержания в крови мононуклеарных клеток. Так, в 2017 г. в периферической крови самок доля моноцитов ($U = 2.80, p = 0.005$) превышала аналогичный показатель самцов (табл. 4.7).

Таблица 4.7

Лейкоцитарный состав периферической крови самок и самцов ужа обыкновенного *Natrix natrix* Северного Прикаспия (2017)

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀ (n=26)		Самцы, ♂♂ (n=13)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	6.00	1.00	6.00	1.00	0.28	0.78
Эозинофилы, %	9.00	2.00	9.00	2.00	0.66	0.51
Базофилы, %	9.50	3.00	10.00	1.00	0.94	0.35
Азурофилы, %	10.50	3.50	9.00	2.00	1.87	0.06
Моноциты, %	7.00	1.00	5.00	1.00	2.80	0.005
Лимфоциты, %	59.00	8.25	60.00	9.00	0.86	0.39
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	24.5	4.00	26.00	6.00	0.91	0.36
Агранулоциты (Σ)	75.5	4.00	74.00	6.00	0.91	0.36
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.33	0.07	0.35	0.09	0.91	0.36
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	6.53	2.24	6.67	2.69	0.04	0.96
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.67	0.35	0.57	0.16	0.79	0.43
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	24.29	8.05	22.31	8.26	0.27	0.79
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.09	0.04	0.09	0.04	0.63	0.53

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *U*- критерий Манна–Уитни; жирным выделены статистически значимые различия

В 2020 г. в этой популяции ужа обыкновенного в крови самцов доля лимфоцитов значимо превышала этот показатель у самок (табл. 4.8). По

остальным изученным показателям лейкограммы в популяции ужа обыкновенного Северного Прикаспия в 2017, 2020 гг. гендерных различий не выявлено.

Таблица 4.8

Лейкоцитарный состав периферической крови самок и самцов ужа обыкновенного *Natrix natrix* Северного Прикаспия (2020)

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀ (n =7)		Самцы, ♂♂ (n =6)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	7.00	2.50	7.00	2.75	0.71	0.47
Эозинофилы, %	10.00	4.50	8.00	1.50	1.21	0.22
Базофилы, %	9.00	2.50	6.50	1.00	0.35	0.72
Азурофилы, %	7.00	1.50	8.50	1.75	1.07	0.28
Моноциты, %	12.00	3.00	9.50	2.50	1.64	0.10
Лимфоциты, %	54.00	5.00	61.00	1.50	2.50	0.01
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	28.00	4.00	23.00	2.25	1.78	0.07
Агранулоциты (Σ)	72.00	4.00	77.00	2.25	1.78	0.07
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.39	0.08	0.30	0.04	1.78	0.07
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	5.40	2.97	9.37	2.04	1.50	0.13
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.83	0.41	1.07	0.39	0.35	0.72
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	20.71	2.46	25.76	3.24	2.21	0.02
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.13	0.05	0.12	0.05	1.21	0.22

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *U*- критерий Манна-Уитни; жирным выделены статистически значимые различия

Межгодовые различия в лейкоцитарном составе крови у самок выявлены по содержанию азурофилов ($Z = 2.86$, $p = 0.02$) и моноцитов ($Z = 3.36$, $p = 0.004$); у самцов – только моноцитов ($Z = 3.48$, $p = 0.002$).

Непараметрический критерий корреляции (ассоциации) Спирмена подтвердил межполовые различия по содержанию в крови лимфоцитов. Умеренную ассоциацию с качественным признаком (полом особи) обнаружили моноциты ($\rho = 0.43$, $R^2 = 0.19$, $p = 0.005$) (табл. 4.9).

Таблица 4.9

Взаимосвязь показателей лейкоцитарной формулы с половой принадлежностью особей ужа обыкновенного *Natrix natrix*

Показатели лейкограммы, %	Статистические показатели		
	R^2 – коэффициент детерминации	ρ – коэффициент корреляции	p – уровень значимости
Гетерофилы	0.008	0.09	0.52
Эозинофилы	0.007	0.08	0.55
Базофилы	0.0005	0.002	0.87
Азурофилы	0.05	0.22	0.10
Моноциты	0.05	0.23	0.09
Лимфоциты	0.08	0.28	0.04

Примечание: жирным текстом выделены статистически значимые различия

Повышенное содержание лимфоцитов в крови самцов ужа обыкновенного можно рассматривать как физиологический компонент определенных этапов развития воспалительной реакции. Учитывая отсутствие различий по другим показателям лейкограмм самок и самцов ужа обыкновенного относительный лимфоцитоз в крови самцов в данном случае, является благоприятным симптомом, свидетельствующим о стимуляции лимфоцитарного роста кроветворения и активации адаптивных иммунных реакций организма.

Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля самок ужа обыкновенного выборок Северного Прикаспия и Мордовского заповедника выявил значимые различия по большинству показателей. В целом выборки ужа обыкновенного урбанизированной территории характеризовались пониженным содержанием в крови гранулоцитов ($U = 1.99$, $p = 0.04$) и

относительно повышенным содержанием агранулоцитов ($U = 1.99, p = 0.04$). Адаптация к условиям обитания на уровне системы крови ужа обыкновенного более выраженно проявлялась в перестройке баланса мононуклеарных клеток: азурофилов ($U = 4.72, p = 0.000002$) и моноцитов ($U = 4.54, p = 0.000005$). Отмечено изменение соотношения и гранулоцитарных лейкоцитов: гетерофилов ($U = 2.95, p = 0.004$) и базофилов ($U = 2.00, p = 0.04$), что подтверждалось результатами критерия Манна-Уитни (рис. 4.6).

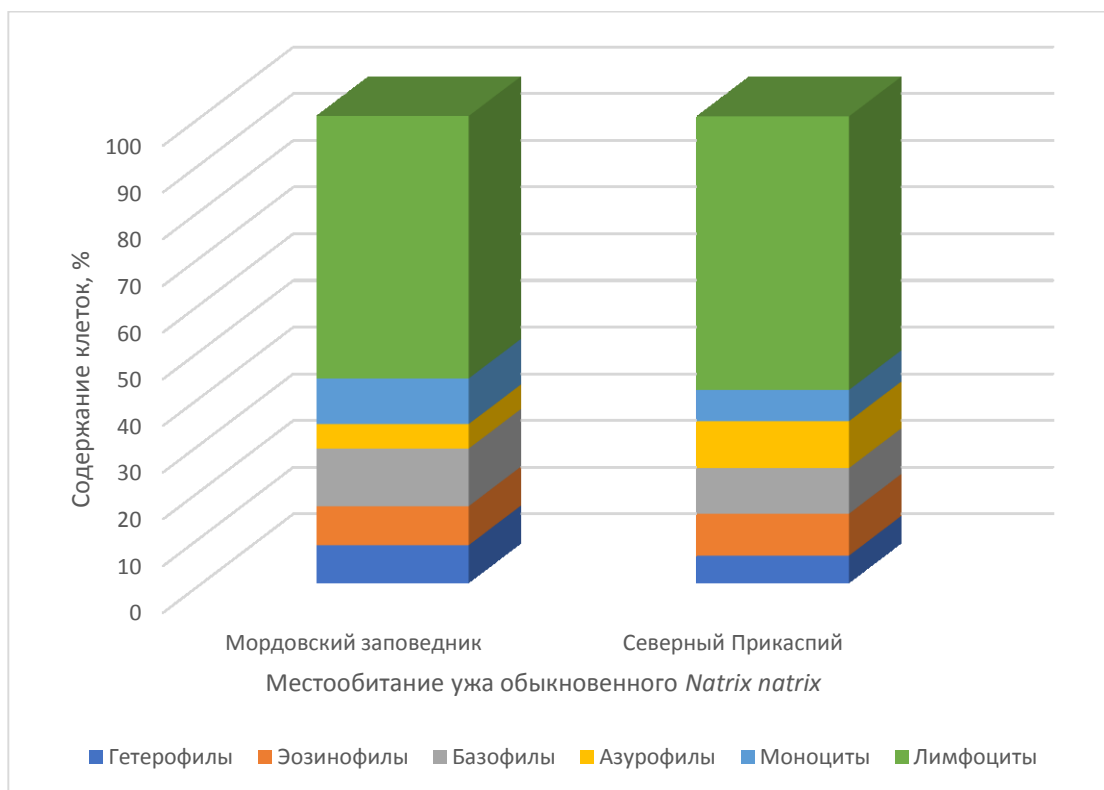


Рисунок 4.6. Перестройка баланса лейкоцитарных клеток в крови ужа обыкновенного, обитающего на урбанизированной и охраняемой территории

Разнонаправленный характер количественных изменений числа гранулоцитарных и агранулоцитарных клеток обуславливал сохранение способности иммунной системы организма ужа обыкновенного к развитию компенсаторных приспособлений как стереотипной реакции системы крови на стрессовое воздействие.

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀ (n=33)		Самцы, ♂♂ (n=17)		Статистические показатели	
	Me	IQR	Me	IQR	U	p
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	5.00	1.50	5.00	1.75	1.26	0.20
Эозинофилы, %	10.00	4.00	8.00	3.50	2.10	0.03
Базофилы, %	9.00	3.50	10.00	1.75	1.51	0.13
Азурофилы, %	9.00	3.00	7.00	1.00	2.88	0.004
Моноциты, %	7.00	1.50	6.00	1.75	1.55	0.12
Лимфоциты, %	59.00	6.50	65.50	5.50	2.73	0.006
<i>Суммарное содержание клеток</i>						

Гранулоциты (Σ)	26.00	6.00	25.00	3.00	1.67	0.09
Агранулоциты (Σ)	74.00	6.00	75.00	3.00	1.67	0.09
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.35	0.10	0.33	0.05	1.67	0.09
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	6.18	3.25	8.00	4.30	2.46	0.01
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.55	0.41	0.64	0.33	0.63	0.52
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	21.85	6.95	25.40	6.40	2.17	0.02
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.08	0.04	0.08	0.02	1.63	0.10

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *U*- критерий Манна-Уитни; жирным выделены статистически значимые различия

Пониженное содержание лимфоцитов в крови самок наблюдалось и в 2020 г. Кроме того, значимо отличалось содержание в крови самок количество гетерофилов и моноцитов (больше по сравнению с самцами) и число базофилов (меньше по сравнению с самцами) (табл. 11).

Таблица 4.11

Лейкоцитарный состав периферической крови самок и самцов ужа водяного *Natrix tessellata* Северного Прикаспия (2020)

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀ (<i>n</i> =28)		Самцы, ♂♂ (<i>n</i> =14)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	9.00	3.00	5.00	2.00	4.67	0.000000 3
Эозинофилы, %	8.00	3.00	7.00	3.50	1.45	0.14
Базофилы, %	6.00	3.00	10.00	2.75	4.81	0.000000 1
Азурофилы, %	7.00	2.25	6.00	1.75	1.41	0.15

Моноциты, %	11.50	4.00	9.50	3.50	2.97	0.0029
Лимфоциты, %	58.00	4.50	62.50	3.00	3.72	0.0001
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	24.00	2.25	23.00	2.50	1.87	0.06
Агранулоциты (Σ)	76.00	2.25	77.00	2.50	1.87	0.06
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.31	0.03	0.30	0.04	1.80	0.07
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	7.25	2.37	8.43	4.48	2.16	0.03
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	1.13	0.83	0.81	0.54	2.68	0.007
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	23.47	2.58	27.56	5.95	3.09	0.001
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.16	0.05	0.07	0.04	4.79	0.000002

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *U*- критерий Манна-Уитни; жирным выделены статистически значимые различия

Сравнивая результаты лейкограмм самцов ужа водяного за период 2017–2020 гг. по критерию Вилкоксона, отметим повышение содержания моноцитов ($W = 2.74$, $p = 0.006$), на фоне отсутствия значимых различий по всем другим показателям лейкоцитарного профиля, включая интегральные индексы. Напротив, в крови самок в динамике проведенных исследований отмечалось перераспределение содержания гранулоцитарных (повышение доли гетерофилов ($W = 4.36$, $p = 0.000013$); базофилов ($W = 4.30$, $p = 0.000017$); снижение доли эозинофилов ($W = 2.31$, $p = 0.020$) и мононуклеарных клеток (повышение доли азурофилов ($W = 2.72$, $p = 0.0063$); снижение доли моноцитов ($W = 4.54$, $p = 0.000006$) за исключением содержания в крови лимфоцитов ($W = 0.91$, $p = 0.36$), доля которых оставалась невысокой, по сравнению с самцами. Такая перестройка баланса лейкоцитарных клеток, по-видимому, обуславливалась развитием в организме самок ужа водяного адаптивной

неспецифической реакции активации в ответ на возрастание средового стресса, что подтверждалось возрастанием интегрального лейкоцитарного индекса *ИСГЛ* ($W = 4.27$, $p = 0.000019$). При этом стабильное значение лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса, *ИЛГ* иллюстрировало сбалансированность, а снижение индекса *ИСЛ* – своевременность развития иммунного ответа организма самок ужа водяного Северного Прикаспия.

Сравнительный анализ лимфоцитарно-гранулоцитарного состава лейкограмм периферической крови ужа водяного разных популяций (Северного и Восточного Прикаспия) выявил значимые различия по содержанию гранулоцитов (гетерофилов), так и мононуклеарных клеток (агранулоцитов: моноцитов и лимфоцитов) (табл. 4.12).

Таблица 4.12

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

Показатель лейкограммы	Северный Прикаспий (n=50)		Восточный Прикаспий (n=54)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	5.00	2.00	12.00	4.25	6.68	<0.001
Эозинофилы, %	9.00	4.00	8.25	5.25	0.93	0.35
Базофилы, %	9.50	4.00	9.50	5.25	1.43	0.15
Азурофилы, %	8.00	2.00	8.00	4.25	1.28	0.20
Моноциты, %	6.50	2.00	11.25	5.50	6.23	<0.001
Лимфоциты, %	62.25	7.00	51.75	8.50	5.65	<0.001
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	25.00	5.00	28.50	8.00	3.17	0.0015
Агранулоциты (Σ)	75.00	5.00	71.50	8.00	3.17	0.0015

Примечание: *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом 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 ($U = 2.64$, $p = 0.05$). 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 взаимосвязи клеток крови и позволяющие оценить работу эффекторных механизмов иммунной системы.

Сравнительный анализ интегральных показателей выявил в популяции *N. tessellata* Восточного Прикаспия повышенное значение индекса *ИСЛ*, *ИСЛЭ*, *ИСГЛ* и более низкого значения *ИЛГ* по сравнению с популяцией вида Северного Прикаспия (табл. 4.13).

Таблица 4.13

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

Показатель лейкограммы	Северный Прикаспий (n=50)		Восточный Прикаспий (n=54)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.34	0.07	0.40	0.16	3.25	0.0015
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	7.09	3.25	6.57	4.38	0.58	0.56
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.61	0.38	1.43	1.04	6.11	<0.001
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	23.63	8.89	18.08	8.12	4.37	<0.001

ИСТЛ, отн. ед.	0.09	0.03	0.25	0.11	6.78	<0.001
----------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	------------------

Примечание: *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

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 сбалансированной адаптивной реакции организма (рис. 4.7). Отметим, что активация специфических реакций иммунной системы (содержание лимфоцитов) прослеживалась в лейкоцитарном составе крови у самцов и самок популяции Северного Прикаспия.

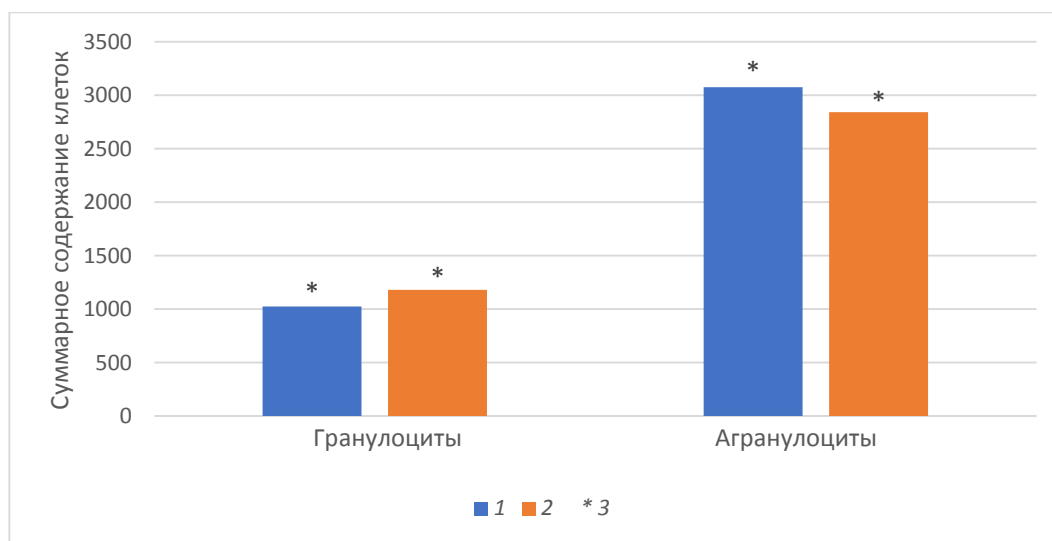


Рисунок 4.7. Перераспределение соотношения гранулоцитов к агранулоцитам в составе периферической крови особей ужа водяного Прикаспийской низменности
1 – Северный Прикаспий; 2 – Восточный Прикаспий; 3 - статистически значимые различия

Особенностью морфологической картины и самок и самцов ужа водяного Восточного Прикаспия являлось повышенное содержание в крови гетерофилов и моноцитов, содержание которых статистически значимо

превышало аналогичные показатели самок (табл. 4.14) и самцов (табл. 4.15) ужа водяного в популяции Северного Прикаспия.

Таблица 4.14

**Лейкоцитарный состав крови самок ужа водяного *Natrix tessellata*
Прикаспийской низменности**

Показатель лейкограммы	Северный Прикаспий, ♀♀ (n=33)		Восточный Прикаспий, ♀♀ (n=27)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	5.00	1.50	12.50	3.50	5.16	<0.001
Эозинофилы, %	10.00	4.00	8.00	4.00	2.15	0.19
Базофилы, %	9.00	3.50	10.00	8.50	0.13	1.00
Азурофилы, %	9.00	3.00	8.00	4.50	0.49	1.00
Моноциты, %	7.00	1.50	11.00	5.00	3.99	0.0004
Лимфоциты, %	59.00	6.50	51.50	10.00	3.44	0.003
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	26.00	6.00	28.5	8.00	1.97	0.04
Агранулоциты (Σ)	74.00	6.00	71.5	8.00	1.97	0.04
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.35	0.10	0.39	0.15	1.97	0.04
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	6.18	3.25	6.94	4.87	1.03	0.30
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.55	0.41	1.70	1.08	4.99	<0.001
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	21.85	6.95	18.59	7.30	2.88	0.003
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.08	0.04	0.24	0.10	5.27	<0.001

Примечание: *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

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 или внешние факторы.

Таблица 4.15

**Лейкоцитарный состав крови самцов ужа водяного *Natrix tessellata*
Прикаспийской низменности**

Показатель лейкограммы	Северный Прикаспий, ♂♂ (n=17)		Восточный Прикаспий, ♂♂ (n=27)		Статистические показатели	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>U</i>	<i>p</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	5.00	1.75	11.50	5.25	4.41	<0.001
Эозинофилы, %	8.00	3.50	8.50	5.50	1.18	1.00
Базофилы, %	10.00	1.75	9.00	4.50	2.33	0.12
Азурофилы, %	7.00	1.00	8.00	5.00	2.84	0.03
Моноциты, %	6.00	1.75	11.50	5.25	4.88	<0.001
Лимфоциты, %	65.50	5.50	52.00	8.50	4.88	<0.001
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	25.00	3.00	28.50	8.00	2.69	0.007
Агранулоциты (Σ)	75.00	3.00	71.50	8.00	2.69	0.007
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.33	0.05	0.39	0.16	2.69	0.007
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	8.00	4.30	6.18	4.23	2.29	0.02
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.64	0.33	1.12	0.81	3.44	0.0005
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	25.40	6.40	17.58	8.14	3.39	0.0006
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.08	0.02	0.23	0.11	4.40	0.00001

Примечание: *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *U* – критерий Манна-Уитни, *p* – уровень значимости; жирным текстом выделены статистически значимые различия ($\alpha = 0.05$).

Интегральные индексы (*ИСГЭ*, *ИЛГ*, *ИСГЛ*) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови самок и

самцов, обитающих в районах Прикаспийской низменности. Так, например, индексы соотношения гетерофилов к лимфоцитам (*ИСГЛ*) и гетерофилов к эозинофилам (*ИСГЭ*) были статистически значимо выше у самцов и у самок ужа водяного Восточного Прикаспия по сравнению с особями Северного Прикаспия (рис. 4.8).

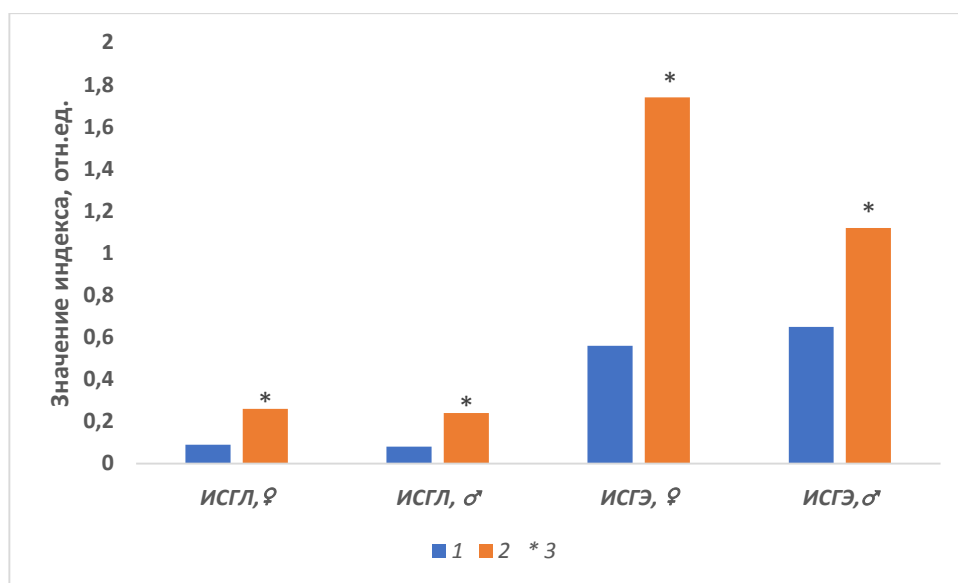


Рисунок 4.8. Значение индекса отношения гетерофилов к лимфоцитам (*ИСГЛ*) и эозинофилам (*ИСГЭ*) для самок и самцов ужа водяного Северного и Восточного Прикаспия
1 – Северный Прикаспий; 2 – Восточный Прикаспий; *3 - статистически значимые различия

Иммунная система рептилий (наземных эктотермных животных) способна реагировать в широком диапазоне температур, 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 et al., 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 активностью. Большинство изменений в организме являются иммуно-опосредованными 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».

Лимфоцитарно-гранулоцитарный состав лейкограмм периферической крови ужа водяного (*Natrix tessellata* Laurenti, 1768) 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 популяции 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 эктотермных животных, обеспечивала максимальную защиту и устойчивое функционирование организма.

4.4. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758) и ужа водяного (*Natrix tessellata* Laurenti, 1768) при синтопии

В настоящем разделе диссертации проведен сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови синтопически обитающих обыкновенного и водяного ужей из популяций Северного Прикаспия в период 2017–2020 гг.

Интерес к изучению систематически близких видов животных, обитающих синтопично, связан со специфичностью межвидовых отношений, статических популяционных показателей (Segurado, Araujo, 2008), особенностями трофических связей, репродуктивного поведения (Jablonski et al., 2017 Hart et al., 2018). Синтопия заставляет виды приспосабливаться к комплексу специфических экологических условий, используя набор универсальных эффекторных клеток, взаимовлияние которых поддерживает гомеостаз организма. Тем не менее изучение адаптивных реакций системы крови синтопических видов, том числе уховых змей, не проводилось. Между тем, актуальность таких исследований заключается в выявлении специфики иммунного реагирования разных видов рептилий в изменяющихся условиях среды, когда темпы антропогенных и климатических изменений требуют постоянной мобилизации адаптационных резервов организма.

Отметим, что при общих адаптивных реакциях двух гидрофильных видов ужей, кроме уже отмеченных гендерных отличий внутри каждого вида, также были выражены и межвидовые различия. Так, в 2017 г в выборке ужа обыкновенного отмечено повышенное содержание азурофилов ($U = 2.53$, $p =$

0.01) по сравнению с ужом водяным. По остальным показателям лейкограммы и интегральным лейкоцитарным индексам не выявлено межвидовых статистически значимых различий в 2017 г. (табл. 4.16).

Таблица 4.16

Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови популяций ужа водяного и ужа обыкновенного, Астрахань, 2017год

Показатель	$H; p$	$\chi^2; p$	1. Уж водяной, самки	2. Уж водяной, самцы	3. Уж обыкновенный, самки	4. Уж обыкновенный, самцы
			$Z; p$			
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы	2.00; 0.57	1.69; 0.63	-			
Эозинофилы	8.27; 0.04	7.65; 0.05	$Z_{1-2} = 2.68; 0.04$			
Базофилы	3.63; 0.30	1.03; 0.79	-			
Азурофилы	15.71; 0.003	14.91; 0.001	$Z_{2-4} = 3.91; 0.0005$			
Моноциты	10.02; 0.01	13.33; 0.004	$Z_{3-4} = 2.82; 0.02$			
Лимфоциты	8.40; 0.03	5.94; 0.11	-			
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты	4.15; 0.24	3.74; 0.29	-			
Агранулоциты	4.15; 0.24	1.70; 0.63	-			
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i>	4.07; 0.25	3.74; 0.29	-			

<i>ИСЛЭ</i>	8.42; 0.03	5.40; 0.14	$Z_{1-2} = 2.89; 0.02$
<i>ИСГЭ</i>	4.05; 0.25	6.72; 0.08	-
<i>ИЛГ</i>	4.56; 0.20	1.70; 0.63	-
<i>ИСГЛ</i>	3.64; 0.30	3.16; 0.36	-

Примечание: *H* - критерий Крускала–Уоллеса, *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

В 2020 году сравнительный анализ выявил гендерные межвидовые различия в лейкоцитарном профиле исследованных видов. Так, у самок ужа обыкновенного обнаружено более высокое содержание гранулоцитов и основной вклад в этот показатель вносили базофилы. Доля лимфоцитов и, в целом, суммарное содержание мононуклеарных клеток в крови самок ужа обыкновенного были меньше, по сравнению с самцами ужа водяного. Интегральные лейкоцитарный индексы (*ИСЛ*, *ИЛГ*) самок ужа обыкновенного иллюстрировали преобладание в иммунном ответе факторов неспецифической резистентности организма (гранулоцитов) и поздней активации эффекторного звена адаптивного ответа (лимфоцитов) (табл. 4.17).

Таблица 4.17

Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови популяций ужа водяного и ужа обыкновенного, Астрахань, 2020 год

Показатель	$H; p$	$\chi^2; p$	1. Уж водяной, самки	2. Уж водяной, самцы	3. Уж обыкновенный, самки	4. Уж обыкновенный, самцы
			$Z; p$			
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы	27.52; <0.001	23.07; <0.001	$Z_{1-2} = 4.99; <0.001$			
Эозинофилы	5.74;	5.02;	-			

	0.13	0.17	
Базофилы	32.05; <0.001	20.56; 0.001	$Z_{1-2} = 5.18; <0.001$ $Z_{1-3} = 3.11; 0.01$
Азурофилы	7.49; 0.06	5.94; 0.11	-
Моноциты	12.25; 0.006	12.35; 0.006	$Z_{1-2} = 3.01; 0.02$
Лимфоциты	22.36; 0.001	18,41; <0.001	$Z_{1-2} = 3.66; 0.001$ $Z_{2-3} = 4.13; <0.001$
<i>Суммарное содержание клеток</i>			
Гранулоциты	9.47; 0.02	6.95; 0.07	$Z_{2-3} = 2.79; 0.03$
Агранулоциты	9.47; 0.02	1.28; 0.73	$Z_{2-3} = 2.79; 0.03$
<i>Лейкоцитарные индексы</i>			
<i>ИСЛ</i>	9.20; 0.03	5.73; 0.13	$Z_{2-3} = 2.76; 0.03$
<i>ИСЛЭ</i>	9.48; 0.02	9.96; 0.02	-
<i>ИСГЭ</i>	9.09; 0.03	8.97; 0.03	$Z_{1-2} = 2.81; 0.03$
<i>ИЛГ</i>	19.02; <0.001	16.94; <0.001	$Z_{1-2} = 2.88; 0.02$ $Z_{2-3} = 3.91; <0.001$ $Z_{3-4} = 3.01; 0.02$
<i>ИСГЛ</i>	29.40; <0.001	21.05; <0.001	$Z_{1-2} = 5.16; <0.001$ $Z_{1-4} = 2.81; 0.03$

Примечание: *H* – критерий Крускала–Уоллеса, *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

В целом, обобщенная лейкограмма ужа обыкновенного (самцов и самок) отличалась от суммарной лейкограммы ужа водяного повышенным

содержанием незрелых мононуклеарных клеток (азурофилов) ($U = 2.53$, $p = 0.01$) (рис. 4.9).

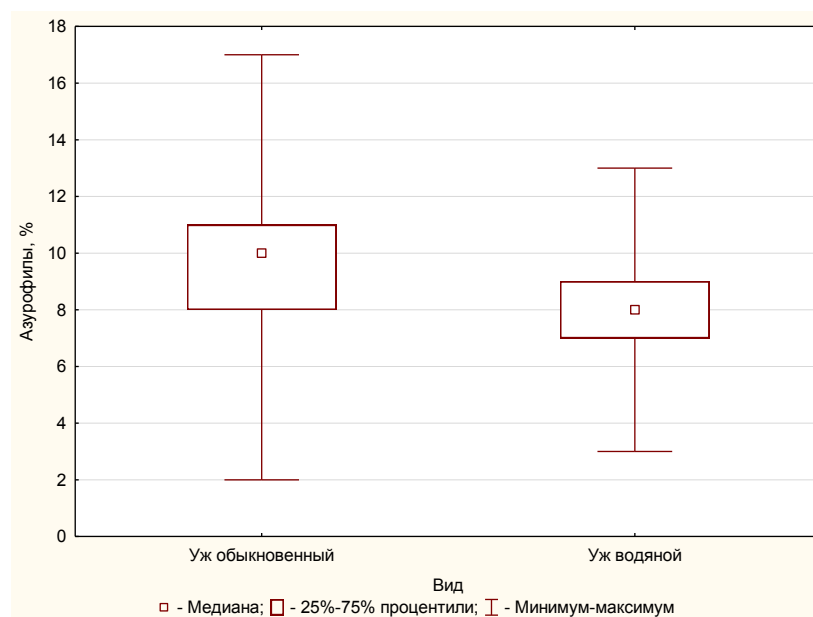


Рисунок 4.9. Различия в количественном содержании азурофилов (%) в крови двух синтопических видов ужей

Что касается дифференцировки у рептилий мононуклеарных клеток, то все исследователи выделяют моноциты и лимфоциты. Кроме того, у чешуйчатых, крокодилов и черепах в отдельный класс мононуклеаров выносят азурофилы (Martinez-Silvestre et al., 2005; Хайрутдинов, Соколина, 2010; Stacy et al., 2011). Азурофилы описаны как клетки нерегулярной формы (Frye, 1991). Ядро у них несегментированное, имеет неправильную округлую, овальную или двудольчатую форму. Хроматин ядра имеет зернистый вид. Цитоплазма базофильная, темнее, чем у моноцитов, окрашивается в интенсивный синий цвет, в ней присутствует небольшое количество матовых азурофильных гранул (Campbell, 2006). Надо отметить, что существует и альтернативное мнение ряда авторов, полагающих, что моноциты и азурофилы рептилий по сути являются одним типом клеток (Veterinary Nematology..., 2012). Является установленным фактом, что моноциты обеспечивают клеточные механизмы неспецифической резистентности и являются фагоцитами, которые обрабатывают и представляют антигены, а

также высвобождают цитокины – гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий (Coico, 2004; Davis et al., 2004; Arican, Cicek, 2010), предназначение которых заключается в формировании очага воспаления.

Резюме. Анализ полученных данных лейкоцитарного состава крови неядовитых змей сем. Colubridae, показал, что различия по срокам онтогенетической активности и местообитанию были более выражены, чем по полу. Кластерным анализом на основании евклидова расстояния по показателям лейкограммы неядовитые змеи (узорчатый полоз, уж обыкновенный, уж водяной) распределились в три кластера (рис. 4.10).

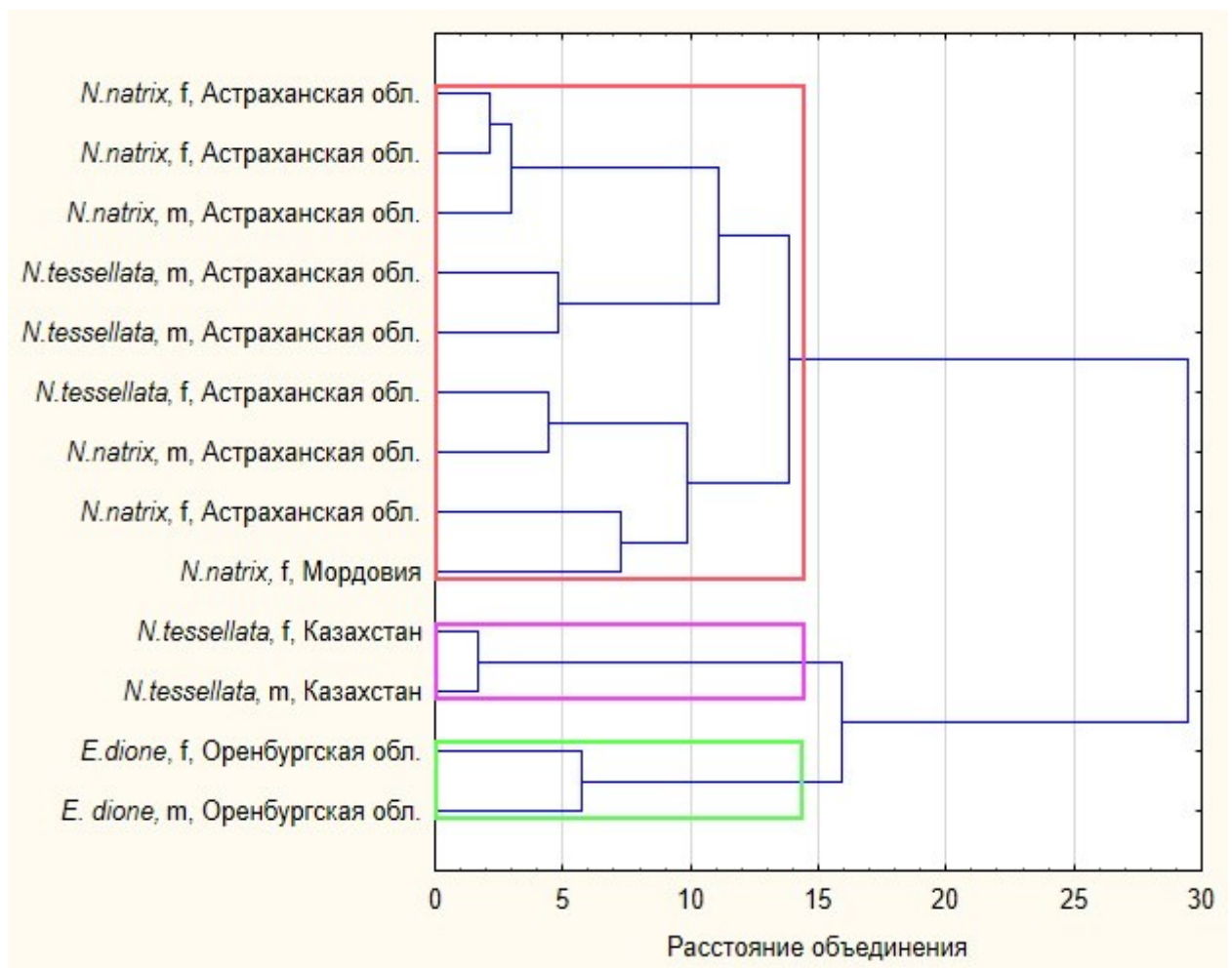


Рисунок 4.10. Дендрограмма иерархической кластеризации выборок неядовитых змей сем. Colubridae

Один из которых составлялиужи обыкновенный и водяной, обитающие в условиях синтопии в Астраханской области, что

свидетельствовало о схожести адаптивных реакций системы крови этих гидрофильных видов к условиям среды. В этот же кластер вошла выборка самок ужа обыкновенного Мордовского заповедника, характеризующаяся, как и самки ужа обыкновенного Северного Прикаспия активацией специфической составляющей иммунитета особей в период подготовки к зимовке.

Во втором кластере сгруппировались самцы и самки ужа водяного Восточного Прикаспия в период спаривания, когда неспецифическая защитная система крови змей быстрее и эффективнее реагирует на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами, обеспечивая максимальную защиту и устойчивое функционирование организма. Узорчатый полоз - ксерофитный вид неядовитых змей охраняемой территории образовывал самостоятельный кластер.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет заключить, что межвидовые различия, фаза онтогенеза и особенности биотопической приуроченности определяют уровень иммунологической реактивности и работу эффекторных механизмов иммунной системы неядовитых змей сем. Colubridae. В условиях синтопического обитания гидрофильные виды ужей (обыкновенного и водяного) характеризуются схожими адаптивных реакциях; межвидовые различия затрагивают незрелые клетки мононуклеарного ряда.

ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЯДОВИТЫХ И НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ В СЕРПЕНТАРИИ

Изучение закономерностей функционирования и динамики живых систем популяций (видов, сообществ, экосистем) является важнейшей проблемой биологии. В условиях искусственного содержания животных (в частности, змей) разработка теории формирования адаптивных стратегий на основе комплексных исследований экологии, физиологии и морфологии рептилий приобретает особую значимость. Хорошо известно, что змеи обладают развитым гуморальным иммунным ответом на антигены (Work et al., 2000; Hussein et al., 1978) и в адаптации рептилий к специфическим условиям обитания, непосредственным образом участвует чувствительная индикаторная система крови, поэтому изменения иммуногематологических параметров отражает адаптивный потенциал и физиологическое состояние организма рептилий (Coico et al., 2003; Davis et al., 2008; Романова и др., 2017а и др.).

При значительном объеме исследований по экологии змей Волжского бассейна (Бакиев и др., 2004; Бакиев и др., 2015 и др.), ограничены работы, посвященные оптимизации условий содержания и эксплуатации ядовитых змей в неволе (Бакиев, Маленев, Гелашвили, 2000), и отсутствуют работы, основанные на аутэкологическом анализе системы крови ядовитых и неядовитых змей в условиях серпентария. Между тем, применение иммуногематологического подхода, позволяет вплотную подойти к решению важнейших задач факториальной экологии, связанных с выяснением механизмов адаптации живых организмов к антропогенно измененным условиям среды.

В настоящей главе проведена оценка адаптивных реакций крови ядовитых змей рода *Vipera* и неядовитых змей сем. ужеобразные Colubridae, отловленных на территории Волжского бассейна, и родившихся в условиях серпентария Института экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти. Гадюковые и ужовые размножаются в неволе, поэтому их можно

использовать в качестве модельных видов в экофизиологии. Содержание в неволе диких животных, которые находятся в условиях, значительно отличающихся от привычной среды обитания, испытывая значительный стресс, позволило нам реализовать модель средового стресса, заключающуюся в определении направленности адаптивных реакций крови сеголетков по сравнению с особями природных популяций.

5.1. Лейкоцитарный профиль крови ядовитых змей рода *Vipera* (*Vipera berus berus*, *V. b. nikolskii* и *V. renardi bashkirovi*)

На территории Волжского бассейна, в разных местообитаниях были отловлены беременные самки: гадюки обыкновенной *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), 4 особи, 15-20 июля 2017 г., Красноглинский район г. Самара, (координаты: 53°24'49.1"N, 50°08'39.0"E). Гадюки Никольского *Vipera berus nikolskii*, 4 особи, июль 2017 г., Лысогорский район Саратовской области, левый берег р. Медведица, окрестности д. Старая Красавка, (координаты: 51°29'38.3"N, 44°53'39.7"E). Гадюки Башкирова *Vipera renardi bashkirovi*, 4 особи, июль 2017 г. Сергиевский район Самарская область, окрестности с. Ендурайкино, (координаты: 53°47'50.0"N, 51°22'34.1"E). Змеи были размещены в серпентарии Института экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти, созданного (1993) для получения змеиных ядов, имеющих применение в фармацевтической промышленности, а также с целью оптимизации условий содержания, эксплуатации и разведения ядовитых змей в неволе (Бакиев, Маленев, Гелашвили, 2000). В условиях серпентария беременные самки принесли потомство: самки гадюки обыкновенной *V. berus* – 13 особей; самки гадюки Никольского *V.b. nikolskii* – 24 особи. Самки гадюки Башкирова *V. bashkirovi* потомства не дали. В период с 21.08 2017 по 29.08. 2017, у самок и молодых, неполовозрелых гадюк была взята кровь для анализа.

Картина крови сеголетков гадюки обыкновенной *V. berus* отличалась от самок пониженным содержанием гетерофилов ($U = 2.40$, $p = 0.01$). В

отношении других показателей формулы крови значимых отклонений не выявлено (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки обыкновенной *Vipera berus* в условиях серпентария

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀		Сеголетки		Критерий Манна – Уитни (u, p)
	Me	IQR	Me	IQR	
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	8.50	2.50	6.00	5.00	2.40, 0.01
Эозинофилы, %	13.50	1.00	12.00	3.00	1.08, 0.27
Базофилы, %	8.00	0.50	10.00	5.00	1.66, 0.09
Азурофилы, %	8.00	3.50	8.00	4.00	0.34, 0.73
Моноциты, %	5.00	3.50	6.00	3.00	0.05, 0.95
Лимфоциты, %	55.50	8.00	59.00	17.00	0.45, 0.65
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты (Σ)	29.50	3.00	27.00	10.00	0.45, 0.65
Агранулоциты (Σ)	70.50	3.00	73.00	10.00	0.67, 0.49
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	0.41	0.06	0.36	0.19	0.51, 0.60
ИСЛЭ, отн. ед.	4.10	0.59	4.87	2.39	0.84, 0.39
ИСГЭ, отн. ед.	0.65	0.18	0.33	0.44	1.58, 0.11
ИЛГ, отн. ед.	17.82	4.40	23.60	12.59	0.39, 0.69
ИСГЛ, отн. ед.	0.16	0.06	0.10	0.10	1.98, 0.04

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах. *u* – критерий Манна-Уитни; *p* – уровень значимости. Жирным текстом выделены статистически значимые различия

Пониженная доля гетерофилов в крови сеголетков отразилась на значениях интегральных индексов крови. Так, индекс соотношения гетерофилов к лимфоцитам (*ИСГЛ*) у молодых особей гадюки обыкновенной *V. berus* был в 1.8 раза ниже, по сравнению с самками, что свидетельствовало о более высокой функциональной активности неспецифической защитной системы крови у взрослых особей, по сравнению с сеголетками. Индексы сдвига лейкоцитарных формул (*ИСЛ*) самок и сеголетков гадюки обыкновенной, обитающих в неволе, были сопоставимыми. Как отмечено нами ранее в гл. 3 диссертации гадюки обыкновенные *V. berus*, обитающие в лесопарковой городской зоне (Самарская обл., Красноглинский район.) имели более низкие показатели *ИСЛ* за период исследования (2014 год – самцы: *Me* – 0.28, *IQR* – 0.09; самки: *Me* – 0.25, *IQR* – 0.07; 2015 год – самцы:

$Me - 0.33$, $IQR - 0.14$; самки: $Me - 0.33$, $IQR - 0.24$) по сравнению с беременными самками, добытыми из этой популяции в 2017 году и размещенных в серпентарии. Повышение лейкоцитарного индекса (ИСЛ) у самок *V. berus* ($Me - 0.41$, $IQR - 0.06$), обусловленное возрастанием в крови доли эозинофилов и перераспределением соотношения доли гранулоцитов/агранулоцитов, свидетельствовало о напряжении компенсаторных процессов организма и снижении адаптивных реакций иммунитета организма особей после рождения потомства в условиях серпентария.

Лейкоцитарный профиль крови сеголетков (серпентарий) имел выраженные различия с гранулоцитарной составляющей лейкоцитарного профиля крови взрослых особей гадюки обыкновенной из природной популяции (г. Самара, Красноглинский район) в 2014. Критерий Краскела – Уоллиса (H) и медианный тест (χ^2) позволили отклонить нулевую гипотезу об отсутствии различий между исследованными выборками, то есть о том, что они получены из одной генеральной совокупности или из генеральных совокупностей с равными медианами, и принять альтернативную гипотезу о статистическом различии лейкоцитарных показателей в исследуемых выборках сеголетков и взрослых особей гадюки обыкновенной (табл. 5.2). Апостериорное сравнение выборок с использованием критерия Данна, с применением поправки Бонферрони при оценке значения p , выявило в крови сеголетков повышенное содержание суммарных гранулоцитов, за счет повышения доли эозинофилов и базофилов, на фоне снижения числа гетерофилов по сравнению с самками и самцами.

Таблица 5.2

Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля крови сеголетков (серпентарий) и взрослых особей гадюки обыкновенной из природной популяции (г. Самара, Красноглинский район)

Показатель лейкограммы	<i>H</i>	<i>p</i>	$\square^2$	<i>p</i>	Самцы, ♂♂		Самки, ♀♀	
					<i>z</i>	<i>p</i>	<i>z</i>	<i>p</i>
Лейкоцитарная формула крови								
Гетерофилы, %	12.28	0.01	10.35	0.03	2.92	0.03	3.07	0.02
Эозинофилы, %	21.02	0.0003	15.20	0.004	4.30	0.01	3.87	0.01
Базофилы, %	38.57	<0.001	28.91	<0.001	3.92	0.0008	4.56	0.00005
Азурофилы, %	18.96	0.0008	11.25	0.02	2.67	0.07	3.82	0.001
Моноциты, %	22.44	0.0002	16.58	0.0023	0.69	1.00	1.04	1.00
Лимфоциты, %	16.34	0.0026	17.52	0.0015	1.03	1.00	0.94	1.00
Суммарное содержание клеток								
Гранулоциты, (Σ)	21.91	0.0002	15.80	0.003	2.83	0.04	3.63	0.002
Агранулоциты, (Σ)	21.52	0.0003	15.14	0.004	2.78	0.05	3.59	0.003
Лейкоцитарные индексы								
ИСЛ, отн. ед.	21.80	0.0002	15.80	0.003	2.82	0.04	3.63	0.002
ИСЛЭ, отн. ед	25.62	<0.001	21.52	0.0002	3.17	0.01	4.06	0.0004
ИСГЭ, отн. ед	28.16	<0.001	24.89	0.0001	3.92	0.0008	4.87	0.00001
ИЛГ, отн. ед.	22.05	0.0002	13.16	0.015	2.14	0.31	2.91	0.03
ИСГЛ, отн. ед.	10.48	0.033	5.17	0.26	2.31	0.20	2.34	0.18

Примечание: *H* - критерий Краскела–Уоллиса, $\square^2$ – медианный критерий; *z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия в показателях крови неполовозрелых особей и гендерных групп взрослых особей

Сдвиг лейкоцитарного профиля сеголетков особенно проявлялся в изменении интегральных индексов: возрастании *ИСЛ* (по отношению к самкам и самцам) и снижении *ИЛГ* (по отношению к самкам), что иллюстрировало активацию неспецифической защитной системы крови и более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена иммунного ответа организма.

Аналогичные, но менее выраженные отклонения лейкоцитарного состава крови у неполовозрелых особей, проявлялись при сравнении с показателями крови самцов и самок из этой популяции в 2015 году.

Для визуализации различий в лейкоцитарном профиле сеголетков и взрослых особей из той природной популяции (Самарская область, 2014,

2015) откуда были взяты беременные самки (2017), мы воспользовались методом главных компонент. На основе интегральных лейкоцитарных показателей (сумма гранулоцитов, агранулоцитов, *ИСЛ*, *ИСЛЭ*, *ИСГЭ*, *ИЛГ*, *ИСГЛ*) выделили первые наиболее информативные главные компоненты и определили их факторные нагрузки. Первая главная компонента с собственным значением 52.38 объясняла 95.11% общей вариации (изменчивости). Вторая главная компонента для значения 2.42 описывала 4.4% оставшейся информации после выделения первой главной компоненты. В первую главную компоненту наибольший вклад вносили переменные: гранулоциты (сильная положительная корреляция), агранулоциты и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, *ИЛГ* (сильные отрицательные корреляции). Поэтому можно субъективно обозначить первую факторную ось, как иллюстрацию сбалансированности иммунного ответа организма. Вторая факторная ось имела наиболее сильную отрицательную корреляцию с переменной *ИСЛЭ* и умеренную положительную с *ИЛГ*. Относительный вклад переменной *ИСЛЭ* (0.69) в дисперсию факторной оси был выше вклада переменной *ИСЛ* (0.20) (рис. 5.1).

Изъятые из природной популяции взрослые особи гадюки обыкновенной (самцы и самки) объединялись в общие группы: выборки 2014 года занимали второй и третий квадрант; выборки 2015 года – четвертый квадрант (рис. 5.2). Половая изменчивость в лейкоцитарном составе крови змей выражена незначительно. Выборка сеголетков располагалась в первом квадранте факторного пространства, что обуславливалось повышенным значением *ИСЛ*, и пониженными значениями всех других индексов, по сравнению со взрослыми особями. Таким образом, адаптивный ответ системы крови сеголетков гадюки обыкновенной в условиях серпентария характеризовался отставанием в реагировании на комплекс факторов среды и несбалансированностью иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями взрослых особей природной популяции.

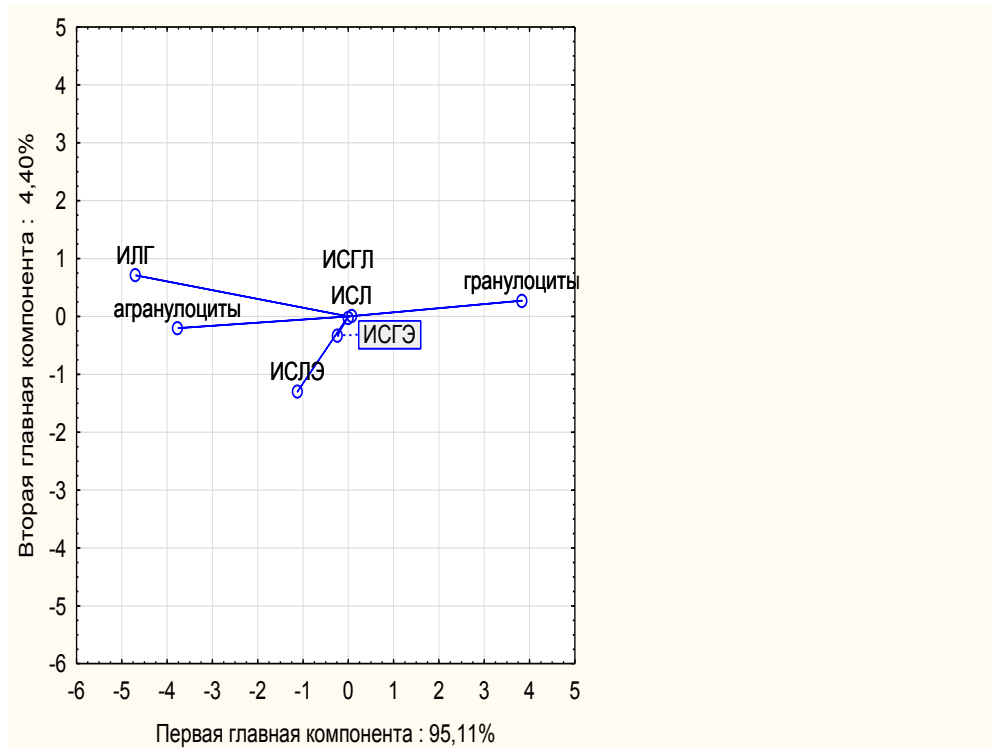


Рисунок 5.1. График факторных координат, построенный на основе интегральных лейкоцитарных показателей крови гадюки обыкновенной

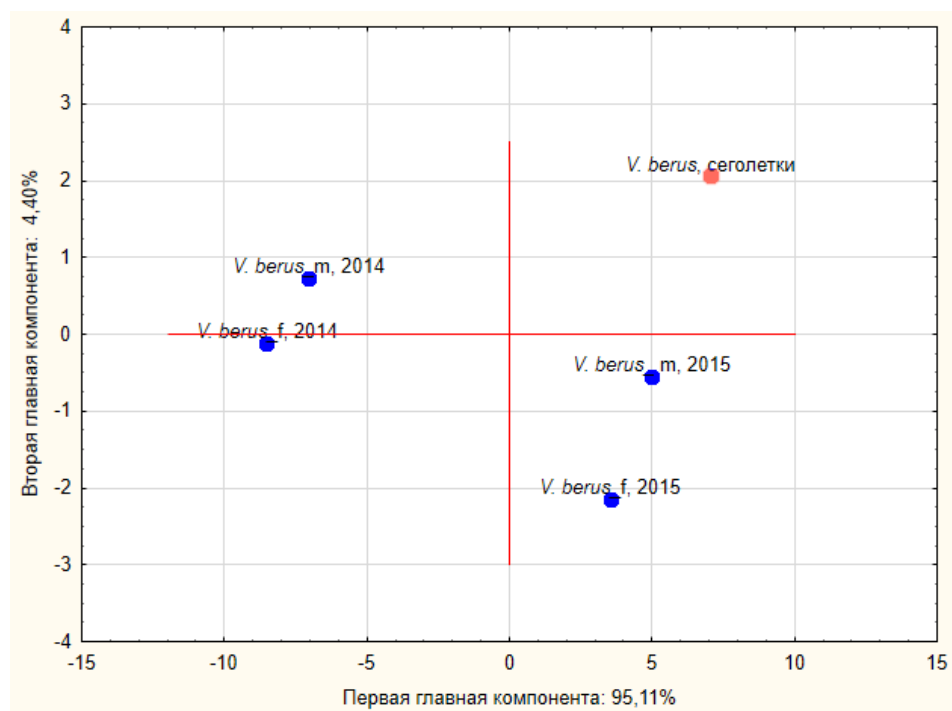


Рисунок 5.2. График рассеяния выборок гадюки обыкновенной в пространстве двух первых главных компонент

m – males, самцы; f – females, самки

С другой стороны, невысокий показатель *ИСЛ*, рассматриваемый как гематологический параметр стресса (Davis et al., 2008), свидетельствовал об отсутствии дополнительного стрессового воздействия и адекватности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме рептилий в специфических условиях серпентария.

Известно, что Волжский бассейн населяют два подвида обыкновенной гадюки: номинативный подвид *V.b.berus* и лесостепной подвид гадюка Никольского *V. b. nikolskii* (Бакиев и др., 2015). Набором современных инструментальных методов подтверждено морфологическое (Зиненко, 2003а,б; Мильто, 2003; Milto, Zinenko, 2005) и генетическое сходство (Zinenko, 2004; Bakiev et al., 2005) подвидов гадюк европейской части России и Украины. По нашим данным, лейкоцитарный профиль и интегральные показатели лейкограмм самок *V.berus* и *V.b.nikolskii*, содержащихся в условиях тольяттинского серпентария, статистически значимо не отличались, что свидетельствовало о формировании сходных адаптивных реакций в организме самок родственных подвидов змей. Сеголетки *V.b. nikolskii* по сравнению с самками характеризовались пониженным содержанием в периферической крови азурофилов ($U = 2.50$, $p = 0.01$) (табл. 5.3).

Таблица 5.3

**Лейкоцитарный состав периферической крови гадюки Никольского
*Vipera berus nikolskii***

Показатель лейкограммы	Самки, ♀♀		Сеголетки		Критерий Манна – Уитни (u, p)
	Me	IQR	Me	IQR	
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы, %	7.00	1.00	5.00	3.50	1.50, 0.13
Эозинофилы, %	13.50	1.00	14.00	6.00	0.09, 0.92
Базофилы, %	7.00	3.50	11.00	12.00	0.98, 0.32
Азурофилы, %	11.00	1.50	6.00	3.00	2.50, 0.01
Моноциты, %	7.00	1.00	6.00	6.50	0.46, 0.64
Лимфоциты, %	54.00	3.00	52.00	14.50	0.42, 0.66
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты (Σ)	28.00	4.50	30.50	12.00	0.59, 0.55
Агранулоциты (Σ)	72.00	4.50	69.50	12.00	0.59, 0.54
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	0.38	0.08	0.43	0.24	0.49, 0.62

ИСЛЭ, отн. ед.	4.00	0.37	4.11	3.27	0.03, 0.97
ИСГЭ, отн. ед.	0.51	0.07	0.39	0.34	0.75, 0.45
ИЛГ, отн. ед.	19.41	4.31	16.79	12.15	0.68, 0.49
ИСГЛ, отн. ед.	0.12	0.02	0.08	0.04	2.04, 0.04

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах. *u* – критерий Манна-Уитни; *p* – уровень значимости. Жирным текстом выделены статистически значимые различия

Отношение гетерофилов к лимфоцитам (*ИСГЛ*) у молодых особей *V.b. nikolskii* как же как, и у молодых особей *V.berus* оказалось значимо ниже, по сравнению с самками ($U = 2.04$, $p = 0.04$), что косвенно свидетельствовало о возрастании неспецифической реактивности организма сеголетков в условиях серпентария. Различия по лейкоцитарным показателям крови между сеголетками гадюк *V.berus* и *V.b.nikolskii* были слабо выражены и статистически не значимы.

Для изучения взаимосвязи между лейкоцитарными показателями и выявлении факторов, которые бы упростили процесс классификации взрослых особей гадюк и сеголетков использовали метод главных компонент. Вначале были определены факторные оси в пространстве меньшей размерности, на которые проецировали наиболее важные с точки зрения интерпретации лейкоцитарные показатели. Из рис. 5.2 следует, что участие компонент в дифференциации исследованных выборок неодинаково. Первая компонента объясняет наибольшую дисперсию и ее роль выше, чем других по информационной насыщенности. Вторая забирает 42.08% оставшейся дисперсии, ее роль меньше, чем роль первой компоненты. Третья, четвертая и пятая компоненты, видимо, не должны учитываться в дальнейшем рассмотрении. Следовательно, мы определили факторные оси в пространстве меньшей размерности, на которые будем проецировать переменные анализа (рис. 5.2).

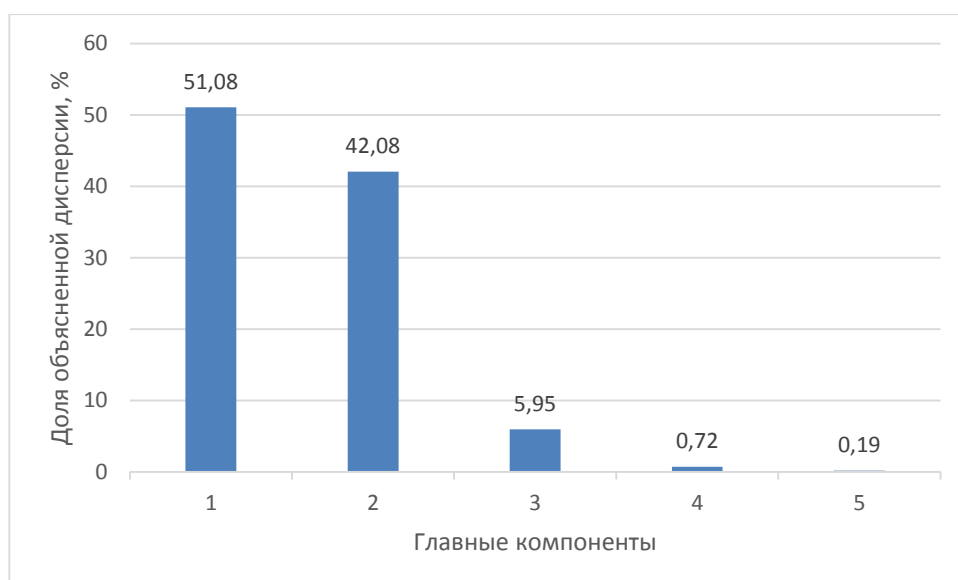


Рисунок 5.2. Доля объясненной дисперсии и собственные значения главных компонент

Первая главная компонента имела высокие факторные нагрузки по переменным лейкоцитарной формулы крови: лимфоциты (0.78) и агранулоциты (0.84) (сильные положительные корреляции); гетерофилы (-0.73) и гранулоциты (-0.84) (сильные отрицательные корреляции). Вторая факторная ось сильнее коррелировала с переменными эозинофилы (0.94) и моноциты (0.90).

График наблюдений в пространстве главных компонент (рис. 5.3) визуализировал полученный результат. Видно, что лейкоцитарные показатели крови самок из популяций *V.berus* и *V.b.nikolskii*, практически «перемешаны» друг с другом, а, следовательно, более близки друг к другу по исследованным характеристикам. Сеголетки располагаются во всех квадрантах факторного пространства, что обусловлено значительными разбросами в показателях лейкоцитарного профиля и несбалансированностью гомеостатических механизмов организма молодых особей.

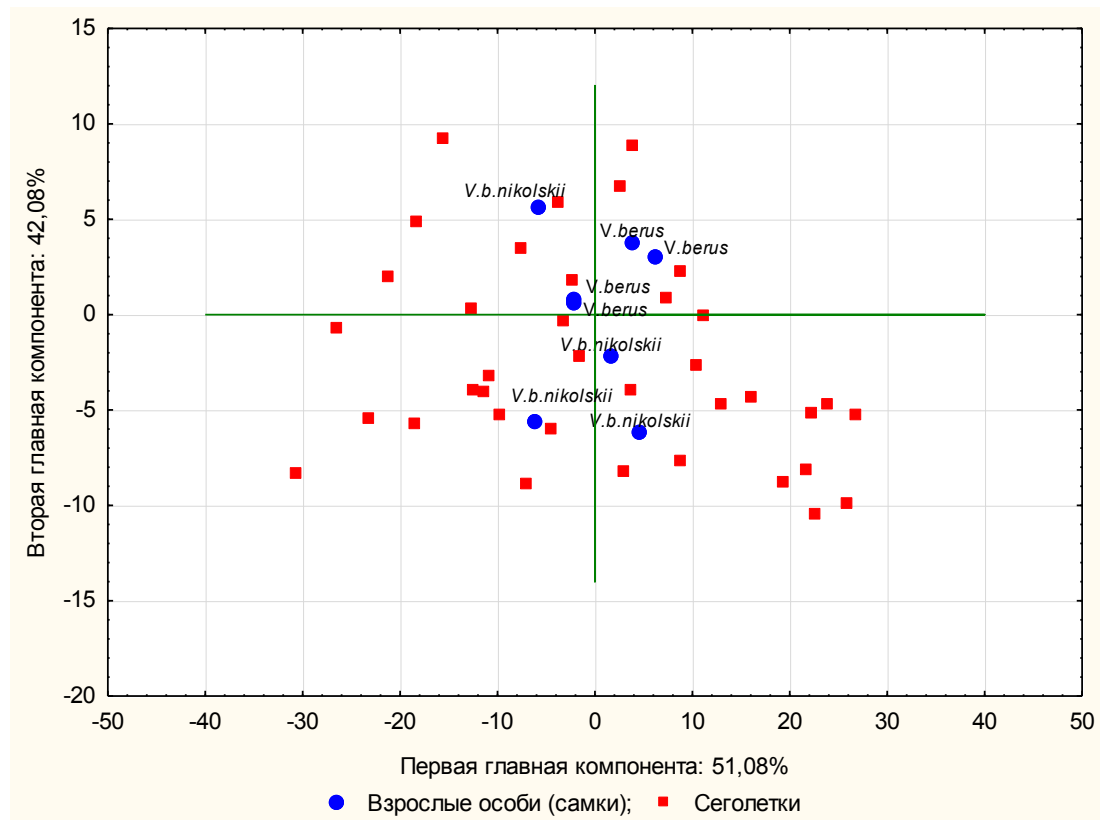


Рисунок 5.3. График рассеивания объектов исследования в пространстве главных компонент

Сравнение эколого-физиологических механизмов адаптации исследованных подвигов змей в разные фазы онтогенеза кластерным анализом на основании евклидова расстояния (относительной связи) показало выделение двух кластеров (рис. 5.4). Один кластер составляли сеголетки двух подвигов *V.berus* и *V.b.nikolskii* и самки гадюки Башкирова (*V. r. bashkirovi*). По совокупности исследованных иммуногематологических показателей сеголетки гадюки Никольского и гадюки обыкновенной, оказались наиболее сходны, что подтверждалось наименьшим расстоянием относительной связи (рис. 5.4).

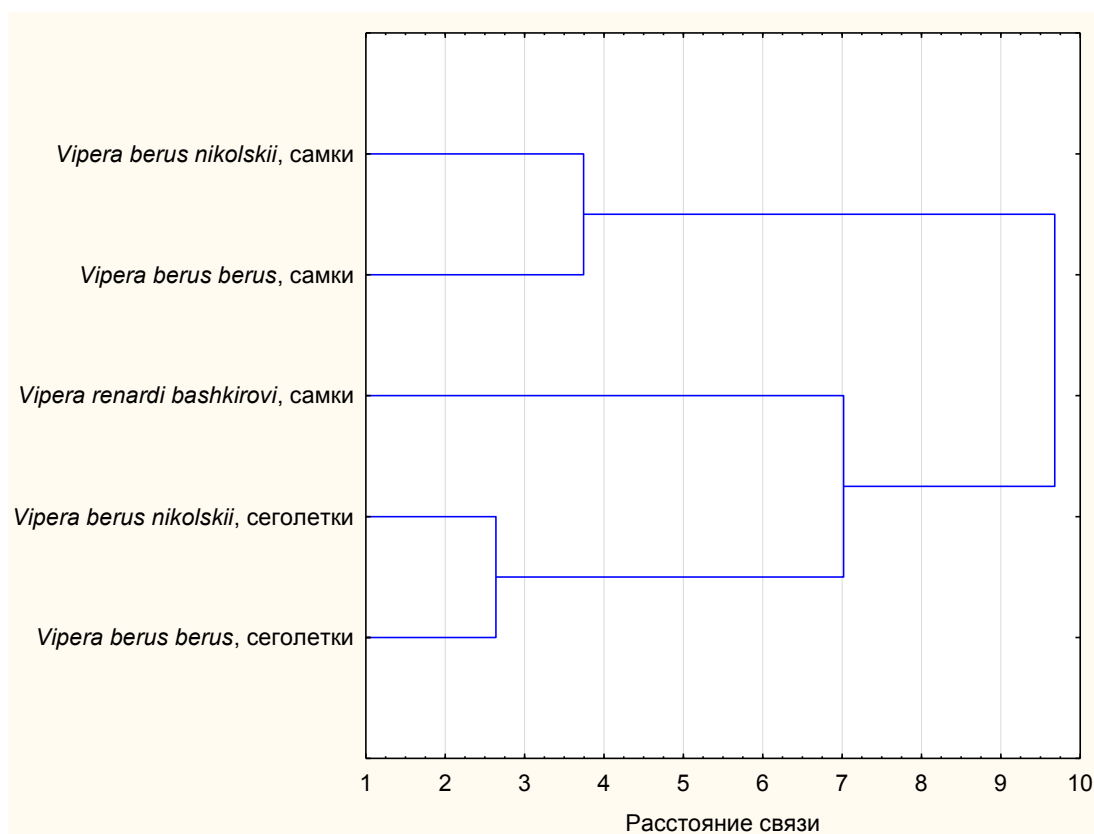


Рисунок 5.4. Дендрограмма сходства выборок из популяций гадюк Волжского бассейна по лейкоцитарному профилю

Самки *V. renardi bashkirovi* располагались на достаточном расстоянии от сеголетков, что свидетельствовало о видоспецифической адаптивной реакции этого вида змей. В отдельный кластер вошли взрослые самки гадюки обыкновенной и гадюки Никольского, что подтверждало схожесть адаптивных реакций системы крови близкородственных видов. Как уже было отмечено, по лейкоцитарному составу самки этих подвидов гадюк между собой похожи, при этом показатели крови гадюки обыкновенной статистически значимо отличались от аналогичных показателей *V. renardi bashkirovi*. Так, самки *V. berus* характеризовались повышенным содержанием в крови гетерофилов ($Z_{1-3} = 2.50$; $p = 0.03$), высокими показателями интегральных индексов (ИСЛ и ИСГЛ) и низкими показателями индексов (ИСЛЭ и ИЛГ) по сравнению с самками *V. renardi bashkirovi* (табл. 5.4).

Таблица 5.4

Лейкоцитарный состав периферической крови самок гадюк Волго-Уральского бассейна

Показатель лейкограммы	1. <i>V. berus</i>		2. <i>V. berus nikolskii</i>		3. <i>V. renardi bashkirovi</i>		Статистические показатели
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	
Лейкоцитарная формула крови							
Гетерофилы, %	8.50	2.50	7.00	1.00	5.00	2.00	$H=6.71, p=0.03$; $Z_{1-3}=2.50, p=0.03$
Эозинофилы, %	13.50	1.00	13.50	1.00	8.00	3.00	$H=6.34, p=0.04$
Базофилы, %	8.00	0.50	7.00	3.50	6.00	2.00	$H=1.01, p=0.50$
Азурофилы, %	8.00	3.50	11.00	1.50	8.00	2.50	$H=3.29, p=0.19$
Моноциты, %	5.00	3.50	7.00	1.00	7.50	1.50	$H=1.57, p=0.46$
Лимфоциты, %	55.50	8.00	54.00	3.00	63.00	6.00	$H=6.33, p=0.04$
Суммарное содержание клеток							
Гранулоциты (Σ)	29.50	3.00	28.00	4.50	22.50	3.00	$H=7.89, p=0.01$; $Z_{1-3}=2.64, p=0.02$
Агранулоциты (Σ)	70.50	3.00	72.00	4.50	77.50	3.00	$H=7.89, p=0.01$; $Z_{1-3}=2.64, p=0.02$
Лейкоцитарные индексы							
ИСЛ, отн. ед.	0.41	0.06	0.38	0.08	0.29	0.04	$H=7.90, p=0.02$; $Z_{1-3}=2.64, p=0.02$
ИСЛЭ, отн. ед.	4.10	0.59	4.00	0.37	7.87	2.76	$H=7.42, p=0.02$; $Z_{1-3}=2.45, p=0.04$
ИСГЭ, отн. ед.	0.65	0.18	0.51	0.07	0.66	0.39	$H=3.55, p=0.17$
ИЛГ, отн. ед.	17.82	4.40	19.41	4.31	28.03	7.29	$H=8.03, p=0.02$; $Z_{1-3}=2.74, p=0.01$
ИСГЛ, отн. ед.	0.16	0.06	0.12	0.02	0.07	0.03	$H=7.79, p=0.02$; $Z_{1-3}=2.75, p=0.01$

Примечание: *Me* – медиана; *IQR* – интерквартильный размах; *H*– критерий Краскала-Уоллиса, *Z*- критерий Данна; *p* – уровень значимости. Жирным текстом выделены статистически значимые различия

Известно, что доля гетерофилов в крови возрастает в ответ на инфекции, воспаление и раздражающие внешние воздействия (Jain, 1993; Campbell, 1995 и др.). Отношение гетерофилов к лимфоцитам (ИСГЛ) рассматривается как составная мера реакции на стресс (Davis et al., 2008). Отметим, что доля лимфоцитов в крови самок змей изменялась незначительно и составляла 50-65% от всех форменных элементов белой крови. Однако повышенное значение интегрального индекса *ИСЛ* ($Z_{1-3} = 2.64$; $p = 0.02$) у самок *V. berus*, по сравнению с самками *V. renardi bashkirov*, свидетельствовало о признаках снижения адаптивных реакций иммунной системы организма, что, по-видимому, компенсировалось повышением

функциональной активности неспецифической защитной системой крови (содержанием гетерофилов) в условиях серпентария.

Таким образом, выявлены возрастные различия в лейкоцитарном профиле крови ядовитых змей. Показано, что параметры лейкоцитарной системы крови сеголеток рода *Vipera*, отличались от показателей крови взрослых особей. Более выраженные различия выявлены в долевого составе гранулоцитов. Молодые особи гадюки обыкновенной *V. berus* отличались от самок пониженным содержанием гетерофилов, сеголетки *V.b. nikolskii* – азурофилов. Более низкие показатели индекса соотношения гетерофилов к лимфоцитам (ИСГЛ) у сеголетков, по сравнению с самками, отражали активацию неспецифической резистентности организма. По интегральным лейкоцитарным показателям крови между собой сеголетки гадюк двух подвидов (*V. berus* и *V.b. nikolskii*) статистически значимо не различались. Кластерный анализ подтвердил сходство эколого-физиологических механизмов адаптации сеголетков и адаптивных реакций системы крови взрослых самок близкородственных видов (гадюки обыкновенной и гадюки Никольского) в условиях серпентария. С помощью расчета интегральных лейкоцитарных индексов показана видоспецифическая адаптивная реакция самок *V. renardi bashkirovi* к условиям серпентария.

5.2. Лейкоцитарный профиль крови сеголетков неядовитых ужовых змей сем. Colubridae (*Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*)

Узорчатый полоз *Elaphe dione* (Pallas, 1773), обыкновенный уж *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и водяной уж *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) относятся к широко распространенным в Палеарктике видам змей семейства ужовых Colubridae (Ананьева и др., 2004; Sindaco et al., 2013). Названные ужовые размножаются в неволе, являются объектами террариумистики (Кудрявцев и др., 2019). Поэтому их можно использовать в качестве модельных видов для изучения реакций иммунологической системы

рептилий на воздействие естественных и искусственных факторов окружающей среды, что необходимо для решения ряда проблем теоретической и прикладной экологии. До настоящего времени отсутствуют работы, основанные на аутоэкологическом анализе системы крови особей, содержащихся в условиях неволи. Нет сведений о лейкоцитарном профиле крови молоди названных видов.

В настоящей главе диссертации представлена оценка лейкоцитарного профиля сеголетков узорчатого полоза, обыкновенного и водяного ужей, родившихся в неволе.

Беременных самок узорчатого полоза (7 особей), ужей обыкновенного (2 особи) и водяного (11 особей) отловили на Правобережье Средней Волги (Сызранский и Ставропольский районы Самарской области) в июне – июле 2019 г. Змеи отложили яйца в серпентарии Института экологии Волжского бассейна РАН. Из инкубируемых в искусственных условиях яиц вылупилась молодь: 47 особей узорчатого полоза с 25 июля по 12 августа, 90 особей ужа водяного с 31 июля по 9 августа, 7 особей ужа обыкновенного с 16 июля по 8 августа. У них взяли кровь для анализа 24 августа 2019 г. Затем самок и их потомство выпустили в места отлова самок.

Центральные тенденции и меры рассеяния количественных показателей лейкоцитарного профиля крови для сеголетков ужей: *N. natrix* и *N. tessellata* показали одинаковое соотношение в крови гранулоцитов и мононуклеарных клеток (1:3). В крови *E. dione* соотношение гранулоцитов к агранулоцитам оказалось приблизительно одинаковым и составляло 1:1.3 (табл. 5.5).

Таблица 5.5

Лейкоцитарный профиль крови сеголетков неядовитых змей из серпентария

Показатель лейкограммы	Узорчатый полоз (n=47)		Уж водяной (n=90)		Уж обыкновенный (n=7)	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы, %	10.00	4.00	7.00	4.00	11.00	2.50
Эозинофилы, %	18.50	3.00	8.50	5.00	8.00	2.00
Базофилы, %	14.00	3.00	9.00	4.00	7.00	2.00
Азурофилы, %	5.00	2.00	9.50	4.00	5.00	2.50
Моноциты, %	13.00	5.00	13.00	4.00	9.00	2.50
Лимфоциты, %	40.00	5.00	52.00	6.00	60.00	2.50
<i>Суммарное содержание клеток</i>						
Гранулоциты (Σ)	43.00	5.00	25.00	4.75	27.00	1.00
Агранулоциты (Σ)	57.00	5.00	75.00	4.75	73.00	1.00
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
<i>ИСЛ</i> , отн. ед.	0.75	0.15	0.33	0.09	0.37	0.02
<i>ИСЛЭ</i> , отн. ед.	2.10	0.46	6.24	4.34	7.38	1.56
<i>ИСГЭ</i> , отн. ед.	0.57	0.28	0.86	0.85	1.22	0.44
<i>ИЛГ</i> , отн. ед.	9.30	1.39	20.19	5.08	22.22	1.47
<i>ИСГЛ</i> , отн. ед.	0.25	0.13	0.13	0.08	0.17	0.05

У сеголетков трех видов змей вклад отдельных лейкоцитарных клеток в общий лейкоцитарный профиль крови различен. Так, относительно низкое содержание гетерофилов отмечено у сеголетков ужа водяного ($Me = 7.00$; $IQR = 4.00$), доли гетерофилов в крови узорчатого полоза и обыкновенного ужа статистически значимо не различались ($Z = 0.64$, $p = 1.00$) (табл. 5.6).

Таблица 5.6

Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля крови сеголетков неядовитых змей из серпентария

Показатель	$H; p$	$\chi^2; p$	<i>Elaphe dione</i> (ED)	<i>Natrix natrix</i> (NN)	<i>Natrix tessellata</i> (NT)
			Статистические показатели ($Z; p$)		
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы	20.67; <0.001	10.59; 0.005	$Z_{ED-NN} = 0.64, p=1.00$; $Z_{ED-NT} = 4.11, p<0.001$; $Z_{NN-NT} = 2.52, p= 0.04$		
Эозинофилы	60.11; <0.001	57.95; <0.001	$Z_{ED-NN} = 3.33, p= 0.02$; $Z_{ED-NT} = 7.63, p <0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.28, p= 1.00$		
Базофилы	65.79; <0.001	49.42; <0.001	$Z_{ED-NN} = 4.48, p <0.001$; $Z_{ED-NT} = 7.74, p <0.001$; $Z_{NN-NT} = 1.11, p= 0.79$		

Азурофилы	80.01; <0.001	63.61; <0.001	$Z_{ED-NN} = 0.72, p = 1.00$; $Z_{ED-NT} = 8.29, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 4.49, p < 0.001$
Моноциты	11.06; 0.004	7.17; 0.03	$Z_{ED-NN} = 2.29, p = 0.07$; $Z_{ED-NT} = 1.64, p = 0.30$; $Z_{NN-NT} = 3.10, p = 0.005$
Лимфоциты	71.26; <0.001	39.99; <0.001	$Z_{ED-NN} = 6.09, p < 0.001$; $Z_{ED-NT} = 7.32, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 2.97, p = 0.009$
<i>Суммарное содержание клеток</i>			
Гранулоциты	71.18; <0.001	59.42; <0.001	$Z_{ED-NN} = 2.85, p = 0.01$; $Z_{ED-NT} = 8.41, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.87, p = 1.00$
Агранулоциты	71.18; <0.001	36.27; <0.001	$Z_{ED-NN} = 2.85, p = 0.01$; $Z_{ED-NT} = 8.41, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.87, p = 1.00$
<i>Лейкоцитарные индексы</i>			
ИСЛ, отн. ед.	71.18; <0.001	59.42; <0.001	$Z_{ED-NN} = 2.85, p = 0.01$; $Z_{ED-NT} = 8.41, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.87, p = 1.00$
ИСЛЭ, отн. ед.	73.31; <0.001	59.13; <0.001	$Z_{ED-NN} = 4.18, p < 0.001$; $Z_{ED-NT} = 8.35, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.53, p = 1.00$
ИСГЭ, отн. ед.	9.96; 0.007	9.27; 0.009	$Z_{ED-NN} = 2.69, p = 0.02$; $Z_{ED-NT} = 2.35, p = 0.06$; $Z_{NN-NT} = 1.71, p = 0.26$
ИЛГ, отн. ед.	67.63; <0.001	49.42; <0.001	$Z_{ED-NN} = 4.39, p < 0.001$; $Z_{ED-NT} = 7.91, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 0.94, p = 1.00$
ИСГЛ, отн. ед.	36.33; <0.001	31.27; <0.001	$Z_{ED-NN} = 1.39, p = 0.48$; $Z_{ED-NT} = 6.02, p < 0.001$; $Z_{NN-NT} = 1.29, p = 0.59$

Примечание: H - критерий Краскела–Уоллиса, χ^2 – медианный критерий; Z – критерий Данна, p – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Процентное содержание эозинофилов и базофилов в крови узорчатого полоза значимо выше по сравнению с аналогичными показателями ужей водяного и обыкновенного (рис. 5.5, табл. 5.5).

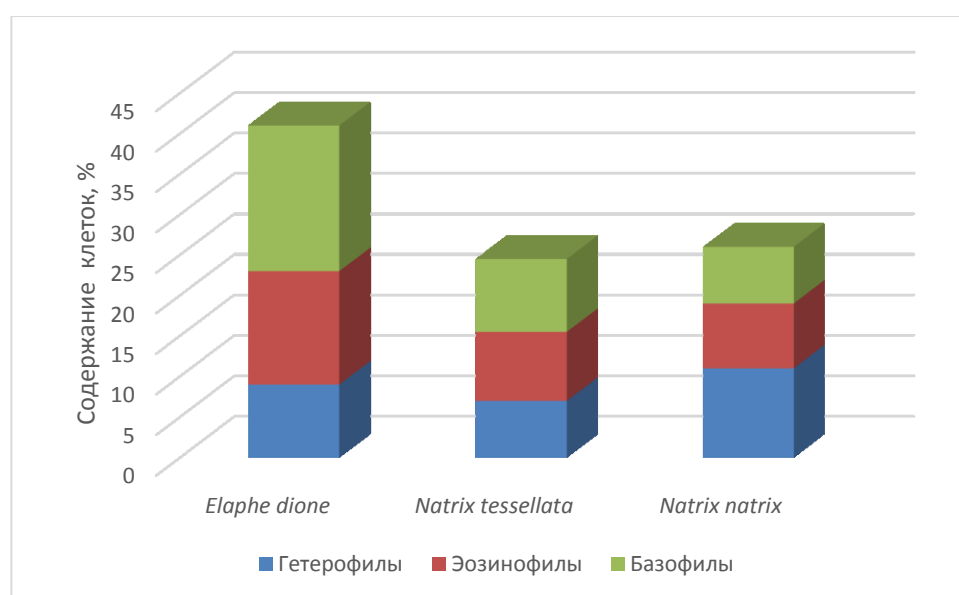


Рисунок 5.5. Содержание гранулоцитарных клеток в крови сеголетков неядовитых уховых змей

Общее содержание мононуклеарных клеток (агранулоцитов) в крови узорчатого полоза было меньше в 1.29 раза по сравнению с аналогичным показателем крови ужа водяного и в 1.25 раза меньше, по сравнению с показателем ужа обыкновенного (рис. 5.6).

Ужи различались по содержанию всех трех типов мононуклеарных клеток. При этом доля азурофилов ($Me - 9.50$; $IQR - 4.00$) и моноцитов ($Me - 13.00$; $IQR - 4.00$) была выше у ужа водяного, а доля лимфоцитов ($Me - 60.00$; $IQR - 2.50$) – у ужа обыкновенного (табл. 5.5). Основной вклад в баланс мононуклеарных клеток вносили лимфоциты. По содержанию лимфоцитов изученные виды неядовитых змей расположились в порядке убывания в следующем ряду: уж обыкновенный ($Me - 60.00$; $IQR - 2.50$) – уж водяной ($Me - 52.00$; $IQR - 6.00$) – узорчатый полоз ($Me - 40.00$; $IQR - 5.00$).

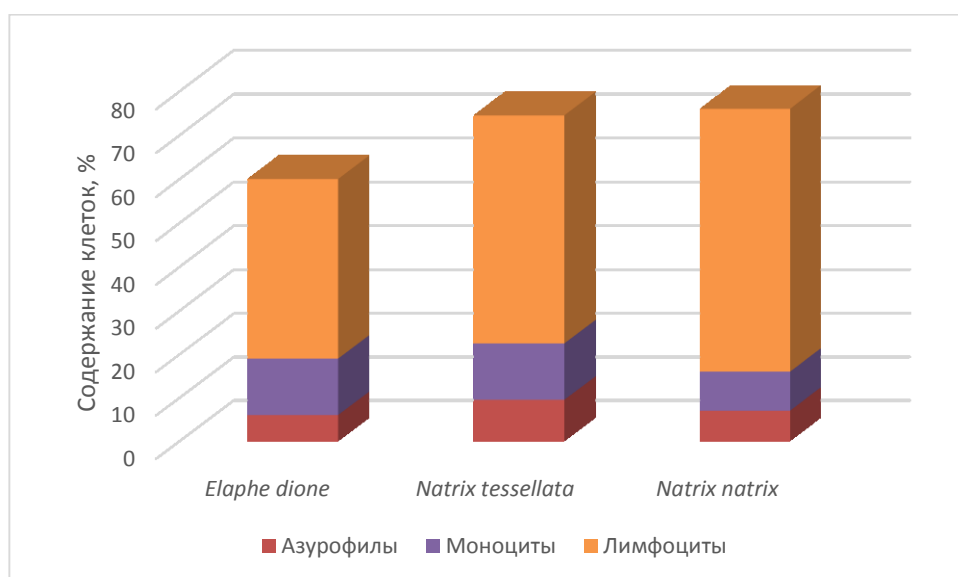


Рисунок 5.6. Содержание мононуклеарных клеток в крови сеголетков неядовитых змей

Отметим отсутствие статистически значимых различий по всем интегральным лейкоцитарным индексам крови ужа водяного и ужа обыкновенного, что отражало сходную динамику иммунного ответа и адаптивную реакцию обоих видов в условиях серпентария. Иная картина наблюдалась при рассмотрении интегральных лейкоцитарных показателей

крови узорчатого полоза. Повышенное значение *ИСЛ* у молодых особей узорчатого полоза свидетельствовало о преобладающей роли в иммунном ответе гранулоцитов при некотором отставании клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена. Хорошо известно, что мононуклеарные клетки являются основными в реализации иммунного ответа на инфекционные агенты и ксенобиотические факторы среды (Montali, 1988; Zimmerman et al., 2009; Munor, De la Fuente, 2001; Keller et al., 2005 и др.). Следовательно, у сеголетков узорчатого полоза наблюдалась более поздняя активация эффекторного звена иммунного ответа (лимфоцитов) по сравнению сеголетками ужа обыкновенного и ужа водяного. При снижении специфической реакции иммунной системы в организме молодых полозов наблюдалась компенсаторная активация неспецифической защитной системы крови (содержание гранулоцитов), что обеспечивало функционирование организма в специфических условиях серпентария. Иллюстрацией повышения функциональной активности гранулоцитарных клеток являлись пониженные значения индексов: *ИСЛЭ*, *ИСГЭ* в лейкоцитарном профиле узорчатого полоза. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (*ИЛГ*) рассматривается как показатель сбалансированности ответной реакции клеток крови на активный воспалительный процесс. Понижение этого показателя, на фоне повышения индекса *ИСГЛ* (в 1.8 раза по сравнению с аналогичным показателем ужа водяного, $Z = 6.02$, $p < 0.001$) свидетельствовало о незавершенности иммунного ответа и развитии стресс-реакций в организме молодых особей узорчатого полоза (рис. 5.7).

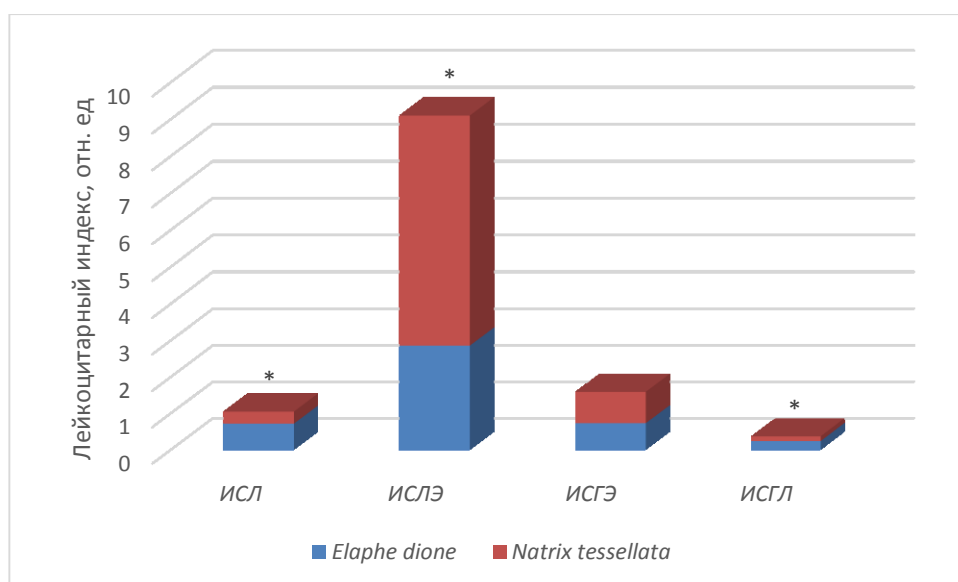


Рисунок 5.7. Лейкоцитарные интегральные индексы крови сеголетков узорчатого полоза и ужа водяного в серпентарии
* - статистически значимые различия

Известно, что подавление эффекторной функции иммунной системы при стрессе эволюционно не является адаптивным, резкое снижение в крови содержания лимфоцитов и эозинофилов наблюдается только при сильных стрессах (Барабой, 2006). В такой ситуации активный иммунный ответ может быть критичным для выживания, он необходим и оправдан, например, при воспалении. Кратковременные стрессы (слабой и умеренной силы) вызывают не деструкцию, а перераспределение иммуноцитов, что приводит в быстрому, своевременному и сбалансированному иммунному ответу на стрессовый фактор. В этой связи представлялось интересным сравнение лейкоцитарных профилей крови сеголетков и взрослых особей представителей сем. Colubridae из природных популяций.

Анализ лейкоцитарных профилей крови сеголетков и взрослых особей узорчатого полоза *Elaphe dione*, обитающего в естественных условиях особо охраняемой природной территории (ГПЗ «Оренбургский»), выявил значимые различия по всем изученным показателям, иллюстрирующие перестройку баланса лейкоцитарных клеток и отражающие пластичность компенсаторных возможностей иммунной системы змей (табл. 5.7).

Таблица 5.7

Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля крови сеголетков (серпентарий) и взрослых особей *Elape diene* из природной популяции (ГПЗ «Оренбургский»)

Показатель	N; p	χ^2 ; p	1. Самки ♀♀	2. Самцы ♂♂	3. Сеголетки
			Z; p		
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы	9.50, p=0.008	7.18, p=0.02	Z ₂₋₃ =3.06, p=0.006		
Эозинофилы	20.65, p<0.001	7.50, p=0.02	Z ₁₋₃ =4.44, p=0.00002; Z ₁₋₂ =2.43, p=0.04		
Базофилы	26.61, p<0.001	13.77, p=0.001	Z ₁₋₃ =4.63, p=0.00001; Z ₂₋₃ =2.98, p=0.008		
Азурофилы	26.61, p<0.001	29.65, p<0.001;	Z ₁₋₃ =4.30, p=0.00004; Z ₂₋₃ =4.67, p=0.000009		
Моноциты	29.17, p<0.001	16.66, p=0.003	Z ₂₋₃ =5.20, p=0.000001		
Лимфоциты	37.65, p<0.001	27.48, p<0.001	Z ₁₋₃ =4.69, p=0.00008; Z ₂₋₃ =4.67, p=0.000009-		
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты	31.85, p<0.001	17.14, p=0.0002	Z ₁₋₃ =4.77, p=0.00005; Z ₂₋₃ =3.77, p=0.0004		
Агранулоциты	31.69, p<0.001	20.49, p<0.001	Z ₁₋₃ =4.76, p=0.00006; Z ₂₋₃ =3.75, p=0.0005		
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ, отн. ед.	31.83, p<0.001	17.14, p=0.0002	Z ₁₋₃ =4.78, p=0.00005; Z ₂₋₃ =3.77, p=0.0004		
ИСЛЭ, отн. ед.	26.30, p<0.001	16.26, p=0.0003	Z ₁₋₃ =4.68, p=0.000009; Z ₁₋₂ =3.22, p=0.01		
ИСГЭ, отн. ед.	11.06, p=0.004	6.19, p=0.04	Z ₁₋₃ =2.79, p=0.01; Z ₂₋₃ =3.77, p=0.003		
ИЛГ, отн. ед.	36.45, p<0.001	29.38, p<0.001;	Z ₁₋₃ =4.82, p=0.000004; Z ₂₋₃ =4.41, p=0.00003		
ИСГЛ, отн. ед.	18.03, p=0.0001	15.56, p=0.0004	Z ₂₋₃ =3.88, p=0.0003		

Примечание: *N* - критерий Краскела–Уоллиса; χ^2 – медианный критерий; *Z* – критерий Данна; *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия в показателях крови неполовозрелых особей и гендерных групп взрослых особей

Анализ полученных данных позволяет прийти к заключению о перестройке баланса лейкоцитарных клеток в организме сеголетков в пользу активации пула гранулоцитарных клеток, доля которых была выше значимо выше по сравнению с показателями самок (*Z* = 4.77, *p* = 0.00005) и самцов *Z* =

3.77, $p = 0.0004$). Более ощутимый вклад в увеличение суммарного показателя вносили эозинофилы и базофилы (рис. 5.8).

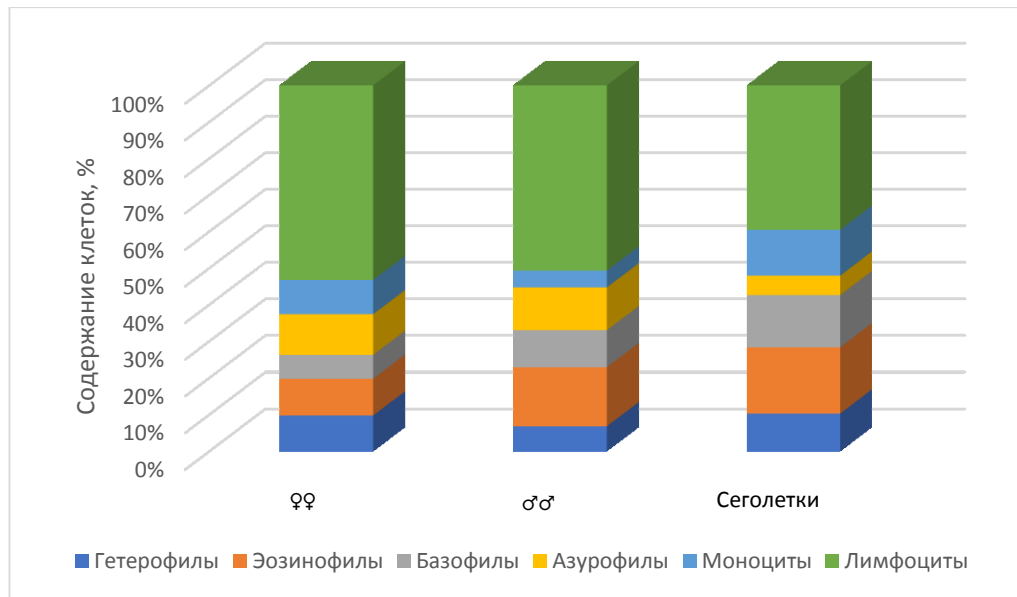


Рисунок 5.8. Перестройка баланса лейкоцитарных клеток в периферической крови сеголетков и взрослых особей узорчатого полоза

Количественные изменения в лейкоцитарных показателях крови молодых и взрослых особей узорчатого полоза *E. diene* наглядно проявлялись при расчете интегральных лейкоцитарных индексов. Возрастание *ИСЛ* и *ИСГЛ* подтверждало развитие начальных стадий стресса, а снижение индексов *ИСЛЭ*, *ИСГЭ* и *ИЛГ* иллюстрировало развитие эозинофилии и лимфопении в крови сеголетков, в отличие от взрослых особей.

Анализ лейкоцитарных профилей крови сеголетков и взрослых особей ужа обыкновенного *N. natrix*, обитающих в естественных условиях Северного Прикаспия (Астраханская область), не выявил количественных различий по содержанию гранулоцитов и агранулоцитов. При этом сеголетки характеризовались долевым превышением гетерофилов (по сравнению с самками и самцами), моноцитов (с самцами), а также пониженным содержанием базофилов (по сравнению с самками и самцами) и азурофилов (с самками) (табл. 5.8).

Таблица 5.8

Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови сеголетков и взрослых особей ужа обыкновенного *Natrix natrix*

Показатель	<i>N; p</i>	<i>χ²; p</i>	1. Самки ♀♀	2. Самцы ♂♂	3. Сеголетки
			<i>Z; p</i>		
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>					
Гетерофилы	15.07; p<0.001	15.48 p<0.001	Z₁₋₃ = 3.60, p<0.001; Z₂₋₃ = 3.56, p= 0.002		
Эозинофилы	0.66; p=0.72	0.19; p=0.91	-		
Базофилы	8.96; p=0.01	4.58; p=0.10	Z₁₋₃ = 2.49, p= 0.04; Z₂₋₃ = 2.90, p= 0.01		
Азурофилы	14.95; p<0.001	7.66; p=0.02	Z₁₋₃ = 3.77, p <0.001		
Моноциты	14.05; p<0.001	14.26; p<0.001	Z₁₋₂ = 2.61, p= 0.03; Z₂₋₃ = 3.54, p= 0.001		
Лимфоциты	0.89; p= 0.64	0.37; p=0.83	-		
<i>Суммарное содержание клеток</i>					
Гранулоциты	3.09; p=0.21	5.03; p=0.08	-		
Агранулоциты	3.09; p= 0.21	5.03; p=0.08	-		
<i>Лейкоцитарные индексы</i>					
<i>ИСЛ</i>	2.99; p=0.22	5.03; p=0.08	-		
<i>ИСЛЭ</i>	0.48; p=0.79	1.98; p=0.37	-		
<i>ИСГЭ</i>	10.71; p=0.004	5.81; p=0.05	Z₁₋₃ = 2.87, p=0.01; Z₂₋₃ = 3.15, p= 0.004		
<i>ИЛГ</i>	0.59; p=0.74	1.98; p=0.37	-		
<i>ИСГЛ</i>	13.33; p= 0.001	9.01; p=0.01	Z₁₋₃ = 3.31; 0.003; Z₂₋₃ = 4.43; 0.002		

Примечание: *N* - критерий Краскела–Уоллиса, χ^2 – медианный критерий; *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Такая перестройка баланса лейкоцитарных клеток проявлялась повышением значения лейкоцитарных индексов (*ИСГЭ* и *ИСГЛ*), что иллюстрировало преобладающую роль гетерофилов при реализации адаптационных неспецифических антистрессовых реакций крови неполовозрелых особей в условиях серпентария.

Аналогичные тенденции в отклонениях лейкоцитарного профиля крови сеголетков от показателей взрослых особей, обитающих в естественных условиях Северного Прикаспия (Астраханская область) выявлены для ужа

водяного *N. tessellata*. На фоне одинакового (со взрослыми особями) соотношения в крови гранулоцитов и агранулоцитов сеголетки характеризовались повышенным содержанием гетерофилов, моноцитов (по сравнению с самками и самцами), азурофилов (с самцами), эозинофилов (с самками) и пониженным содержанием лимфоцитов (по сравнению с самками и самцами), базофилов (по сравнению с самцами) (табл. 5.9).

Таблица 5.9

Сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови сеголетков и взрослых особей ужа водяного *Natrix tessellata*

Показатель	$H; p$	$\chi^2; p$	1. Самки ♀♀	2. Самцы ♂♂	3. Сеголетки
			Статистические показатели (Z, p)		
Лейкоцитарная формула крови					
Гетерофилы	14.77; p <0.001	18.00; p <0.001	$Z_{1-3} = 2.90, p=0.1; Z_{2-3} = 3.00, p<0.001$		
Эозинофилы	7.87; $p= 0.02$	8.49; $p= 0.01$	$Z_{1-3} = 2.59, p=0.03$		
Базофилы	6.29; $p=0.04$	9.33; $p=0.009$	$Z_{2-3} = 2.42, p= 0.05$		
Азурофилы	22.56; p <0.001	15.15; p <0.001	$Z_{1-2} = 2.46, p= 0.04; Z_{2-3} = 4.51, p <0.001$		
Моноциты	91.79; p <0.001	77.78; p <0.001	$Z_{1-3} = 8.03, p <0.001; Z_{2-3} = 6.73, p <0.001$		
Лимфоциты	76.69; p <0.001	62.51; p <0.001	$Z_{1-3} = 6.62, p <0.001; Z_{2-3} = 6.95, p <0.001$		
Суммарное содержание клеток					
Гранулоциты	3.18; $p=0.20$	2.86; $p=0.24$	-		
Агранулоциты	3.18; $p=0.20$	2.86; $p=0.24$	-		
Лейкоцитарные индексы					
ИСЛ	3.82; $p=0.15$	2.86; $p=0.24$	-		
ИСЛЭ	6.54; $p=0.04$	4.37; $p=0.11$	$Z_{1-2} = 2.53, p= 0.03$		
ИСГЭ	15.08; p <0.001	17.76; p <0.001	$Z_{1-3} = 3.75, p <0.001$		
ИЛГ	19.36; p <0.001	16.11; p <0.001	$Z_{2-3} = 6.95, p <0.001$		
ИСГЛ	32.31; p <0.001	25.47; p <0.001	$Z_{1-3} = 4.27, p <0.001; Z_{2-3} = 4.55, p <0.001$		

Примечание: *H* - критерий Краскела–Уоллиса, χ^2 – медианный критерий; *Z* – критерий Данна, *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Повышенное значение лейкоцитарного индекса стресса (*ИСГЛ*) у сеголетков по сравнению со взрослыми являлось сигналом раннего предупреждения о потенциальных проблемах в выборке ужа водяного в

условиях серпентария. Понижение значения лимфоцитарно–гранулоцитарного индекса (ИЛГ) можно рассматривать как показатель несбалансированности адаптивной реакции клеток крови с намечающейся тенденции к незавершенности иммунных реакций, за счет снижения содержания в крови лимфоцитов. Компенсаторной ответной реакцией на стресс являлось повышение в крови доли гетерофилов и эозинофилов, что свидетельствовало о возрастании неспецифической реактивности организма в адаптационных ответах на комплекс факторов среды обитания.

Таким образом, лейкоцитарные формулы крови трех видов неядовитых ужовых змей (*E. dione*, *N. natrix*, *N. tessellata*), содержащихся в условиях серпентария, не имели выраженного лимфоцитарного профиля, в иммунных реакциях организма преобладала неспецифическая составляющая, более выраженная в крови узорчатого полоза. По сравнению с самками и самцами природных популяций в крови неполовозрелых особей выявлено увеличение содержания гетерофилов, эозинофилов и снижение числа лимфоцитов (табл. 5.10).

Таблица 5.10

Направленность отклонений лейкоцитарных показателей крови сеголетков сем. *Colubridae* по сравнению со взрослыми особями

Показатели лейкограммы	<i>Elaphe dione</i>		<i>Natrix natrix</i>		<i>Natrix tessellata</i>	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
<i>Лейкоцитарная формула крови</i>						
Гетерофилы	–	↑	↑	↑	↑	↑
Эозинофилы	↑	–	–	–	↑	–
Базофилы	↑	↑	↓	↓	–	↓
Азурофилы	↓	–	↓	–	–	↑
Моноциты	–	↑	–	↑	↑	↑
Лимфоциты	↓	↓	–	–	↓	↓
<i>Лейкоцитарные индексы</i>						
ИСЛ	↑	↑	–	–	–	–
ИСЛЭ	↓	–	–	–	–	–
ИСГЭ	↓	↑	↑	↑	↑	–
ИЛГ	↓	↓	–	–	–	↓
ИСГЛ	–	↑	↑	↑	↑	↑

Примечание: – отсутствие значимых различий; ↑ – повышение показателя; ↓ – снижение показателя

Используя информацию, заключенную в исходной матрице данных по лейкоцитарному профилю крови сеголетков и взрослых особей (самцов и самок) трех изученных видов неядовитых змей, методом главных компонент были выделены факторы, ответственные за классификацию выборок. Первая главная компонента с собственным максимальным значением 65.59 объясняла 75.14% общей дисперсии; вторая главная компонента для значения 10.16 описывала 11.64% оставшейся общей информации, третья – 7.66% и так далее. Доля последней шестой компоненты составляла 0.26%. Мерой информативности главных компонент является их дисперсия, поэтому для анализа оставили две первые наиболее информативные компоненты. В первую главную компоненту наибольший вклад вносили переменные лимфоциты (-0.96), агранулоциты (-0.97) и *ИЛГ* (-0.98) с сильными отрицательными корреляциями, а также, эозинофилы (0.95), гранулоциты (0.97), *ИСЛ* (0.97), *ИСЛГ* (0.82) с сильными положительными корреляциями. Вторая факторная ось коррелировала с переменной моноциты (-0.76). При этом первая компонента, имеющая максимальную дисперсию, на 75 % исчерпывала информацию об изменчивости лейкоцитарного состава крови исследованных выборок, тогда как вторая компонента была менее информативна. График рассеяния сеголетков и взрослых особей в пространстве двух первых главных компонент визуализировал межгрупповые отличия. Взрослые особи группировались в области расположения векторов эозинофилы и лимфоциты, доля которых была выше в крови самок и самцов по сравнению с сеголетками. Расположение сеголетков трех видов неядовитых ужовых змей в третьем и четвертом квадрантах факторного пространства, обусловлено однонаправленными сдвигами в лейкоцитарной формуле крови, а именно, повышением доли гетерофилов и моноцитов (рис. 5.9).

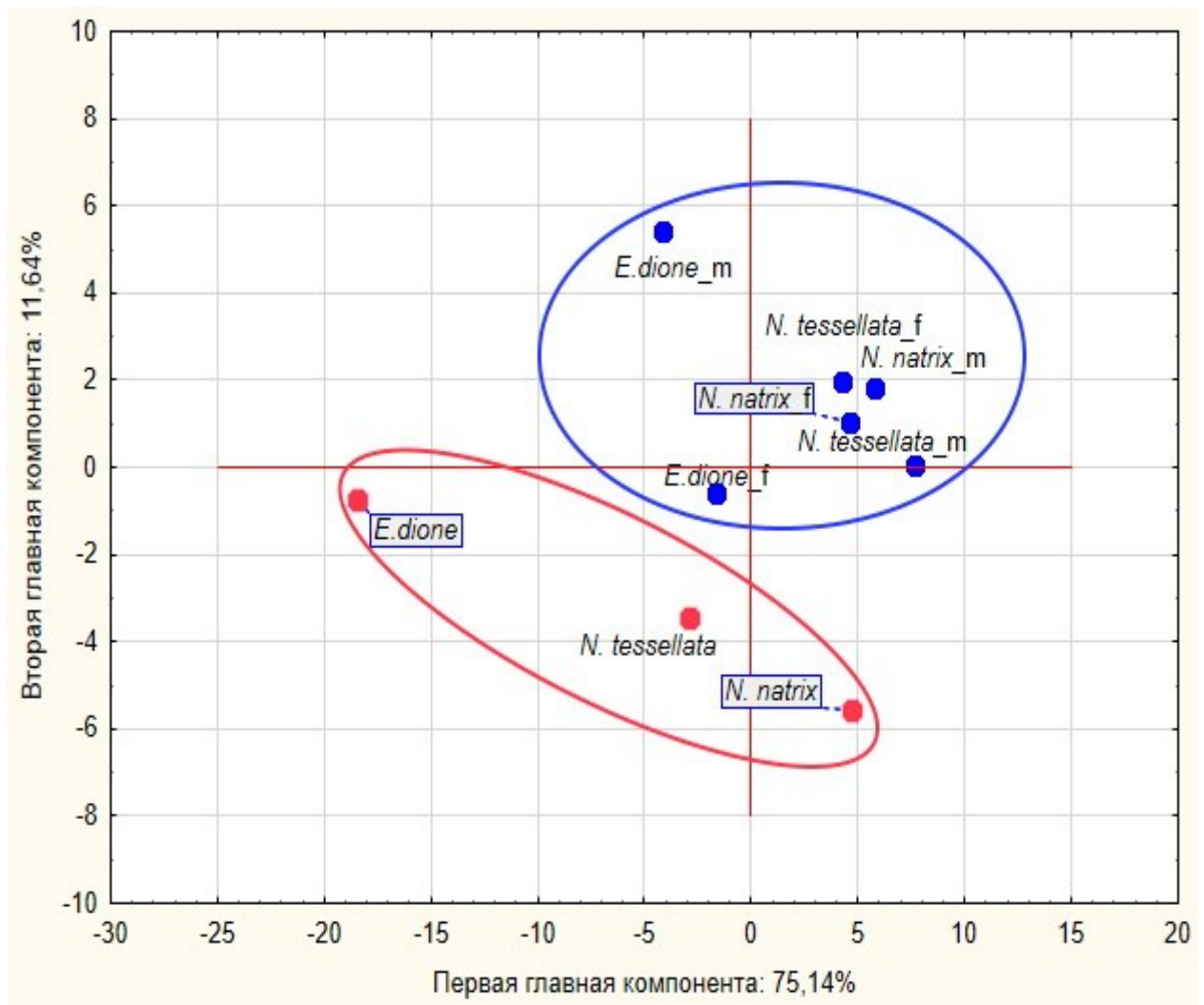


Рисунок 5.9. График рассеяния выборок сеголетков и взрослых особей узорчатого полоза, ужа обыкновенного и ужа водяного в пространстве двух первых главных компонент
m – males, самцы; f – females, самки; ● – сеголетки; ● – взрослые особи

Такое распределение выборок в факторном пространстве находилось в полном соответствии с результатами медианного теста (χ^2) и рангового анализа вариаций по критерию Крассела-Уоллиса (H) при сравнении независимых групп.

Реакция иммунологической системы – это интегральный показатель действия множества механизмов. Факторы окружающей среды разной степени интенсивности нарушают это тонкое межклеточное взаимодействие, что приводит к подавлению иммунореактивности отдельных клеток и перераспределению баланса лейкоцитов. При этом в комплексе ответных реакций могут регистрироваться разнокачественные изменения: стимуляция

неспецифической защитной системы крови на фоне супрессии адаптивных реакций или наоборот, что отражает пластичность компенсаторных возможностей иммунитета при стрессе (Петров, 1990; Земсков и др., 1997; Хаитов, 2006). Стресс, как неспецифическая адаптационная многостадийная реакция, развивается на сильные, неблагоприятные раздражители, вызывая чрезмерную стимуляцию одних подсистем организма и подавление активности других (Селье, 1979; Гаркави и др., 1998; Барабой, 2006). При адаптации к слабым раздражителям не происходит ни подавления, ни активации – это реакции подготовки (тренировки) организма. Раздражители средней силы вызывают развитие общей неспецифической адаптационной реакции (реакция активации) (Гаркави, Квакина, 1990; Гаркави и др., 1998), которая характеризуется быстрым подъемом активности защитных и регуляторных систем организма и выполняет антистрессовую функцию.

Таким образом, можно заключить, что повышенное содержание в крови сеголетков ужовых змей гранулоцитов (в первую очередь за счет ацидофилов) являлось характерным показателем реакции активации и возрастания средового стресса, оцениваемого по интегральному лейкоцитарному индексу *ИСГЛ*. При этом соотношение форменных элементов белой в крови сеголетков смещалось в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы. В отличие от взрослых самцов и самок природных популяций, вклад специфической составляющей в общие иммунные реакции организма сеголетков трех видов неядовитых ужовых змей был небольшим. Интегральные лейкоцитарные индексы отражали несбалансированность адаптивного ответа системы крови у сеголетков, содержавшихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

Резюме. Изучены лейкоцитарные показатели крови ядовитых (рода *Vipera*) и неядовитых змей (сем. *Colubridae*), отловленных на территории Волжского бассейна, и родившихся в неволе. Молодые особи гадюки обыкновенной *V. berus* характеризовались пониженным содержанием

гетерофилов, неполовозрелые особи *V.b. nikolskii* – азурофилов. Лейкоцитарный профиль *V.berus* и *V.b.nikolskii*, статистически значимо не различался, что свидетельствовало о формировании сходных адаптивных реакций в организме самок родственных подвидов змей.

В крови сеголетков *E. dione* преобладали эозинофилы и базофилы, общее содержание мононуклеарных клеток (агранулоцитов) было меньше по сравнению с сеголетками *N. tessellata* и *N. natrix*. При этом виды рода *Natrix* различались по содержанию всех трех типов мононуклеарных клеток: доля азурофилов и моноцитов была выше у *N. tessellata*, а доля лимфоцитов – у *N. natrix*. Основной вклад в баланс мононуклеарных клеток вносили лимфоциты. Лейкоцитарный состав крови молоди не имел ярко выраженного лимфоцитарного профиля, вклад специфической реактивности организма в общую адаптивную реакцию организма сеголетков к окружающим условиям был небольшим. По содержанию лимфоцитов изученные виды расположились в порядке убывания в следующем ряду: *N. natrix* (Me – 60.00, IQR – 2.50) → *N. tessellata* (52.00, 6.00) → *E. dione* (40.00, 5.00). Повышенное значение индекса сдвига лейкоцитов у сеголетков *E. dione* свидетельствовало о преобладающей роли в иммунном ответе гранулоцитов при некотором отставании клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена и более поздней активации эффекторного звена иммунного ответа (лимфоцитов) по сравнению с сеголетками *N. natrix* и *N. tessellata*. При снижении специфической реакции иммунной системы в организме *E. dione* наблюдалась компенсаторная активация неспецифической защитной системы крови. Повышение содержания в крови молодых змей гранулоцитов являлось характерным показателем возрастания средового стресса, оцениваемого по интегральному лейкоцитарному показателю – индексу соотношения гетерофилов и лимфоцитов. Интегральные лейкоцитарные индексы отражали несбалансированность адаптивного ответа системы крови у сеголетков, содержащихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

Таким образом, анализ полученных результатов показывает, что у неядовитых ужовых змей (сем. Colubridae) формирование общей адаптивной реакции обуславливается изменением баланса форменных элементов белой крови и определяется стадией онтогенеза змей: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых самцов и самок имеет выраженный сдвиг в сторону повышения содержания лимфоцитов. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей, родившихся в серпентарии, неспецифические адаптационные реакции иммунной системы реализовались, в том числе, за счет разнонаправленных изменений в количественном содержании гетерофильных гранулоцитов: повышении их доли в крови неядовитых ужовых змей и снижении – в крови ядовитых гадюковых змей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог эколого-физиологической характеристике адаптивных реакций системы крови змей реализованной на трех базовых моделях, отметим, что определение лейкоцитарной формулы крови с расчетом связанных с ней лейкоцитарных индексов, является плодотворным методологическим подходом, позволяющим оценить состояние иммунной системы рептилий и уровень общей реактивности организма, для выявления видоспецифической адаптивной реакции ядовитых и неядовитых змей к условиям естественных биотопов и серпентария. Неспецифические (врожденные) и специфические адаптивные реакции системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов естественной среды обитания реализуются за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов. Интегральные лейкоцитарные показатели иллюстрируют активацию специфических реакций иммунной системы и сбалансированность адаптационных механизмов степной гадюки (самцы и самки) по сравнению с гадюкой обыкновенной.

В рамках пространственной модели на примере широко распространенного вида – ужа обыкновенного выявлены различия лейкоцитарного профиля крови особей, что указывает на адаптивные реакции вида к конкретным географическим условиям разных локалитетов, расположенных почти на 1000 км друг от друга. В механизмах формирования адаптивных реакций на популяционном уровне установлена биотопическая и межвидовая изменчивость. При общих адаптивных реакциях двух синтопических гидрофильных видов ужей (обыкновенного и водяного) межвидовые различия затрагивают моноклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявляются повышенным содержанием азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

Реализация модели средового стресса (содержание змей в неволе) выявила повышение в крови сеголеток неядовитых ужовых змей гранулоцитов, что является характерным показателем развития стрессовых реакций активации и подтверждается высоким значением индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов. У сеголетков узорчатого полоза наблюдается более поздняя активация эффекторного звена иммунного ответа (лимфоцитов) по сравнению сеголетками ужа обыкновенного и ужа водяного. У неядовитых ужовых змей формирование общей адаптационной реакции определяется стадией онтогенетического развития: у сеголетков смещается в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы; у взрослых особей природных популяций обеспечивается за счет активации реакций адаптивного иммунитета. Адаптивный ответ системы крови сеголетков ядовитых змей иллюстрировал более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена и несбалансированность иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями взрослых особей из природных популяций. У сеголетков ядовитых и неядовитых змей неспецифические адаптационные реакции иммунной системы реализуются за счет разнонаправленного перераспределения ацидофилов (в первую очередь, гетерофилов): повышением в крови доли неядовитых ужовых змей и снижением – у ядовитых гадюковых змей, что обуславливает сохранение способности иммунной системы организма рептилий к развитию компенсаторных приспособлений как стереотипной реакции системы крови в условиях средового стресса.

Как известно, эколого-физиологический подход к исследованию ядовитых животных органично интегрирует в себе специфику биологии и продуцируемых ядов, как химических веществ, участвующих в межвидовых (аллелохимических) взаимодействиях (Гелашвили и др., 2015) и, можно полагать, что адаптивные стратегии ядовитых змей рода *Vipera* на ранних

стадиях онтогенеза, когда гранулоцитарная составляющая крови, реализующая сильные врожденные иммунные ответы менее активна, определяются, в том числе, и биологической спецификой действия их яда, имеющего более высокую токсичность у сеголетков по сравнению со взрослыми половозрелыми особями (Атяшева и др., 2016), что обеспечивает резистентность и успешное выживание молодых особей в условиях средового стресса. В этой связи нам представляется актуальным провести сравнительный анализ приспособительной изменчивости важнейшей физиологической системы организма ядовитых и неядовитых змей к условиям конкретных местообитаний естественных биотопов.

Методом главных компонент были выделены факторы, ответственные за классификацию выборок.

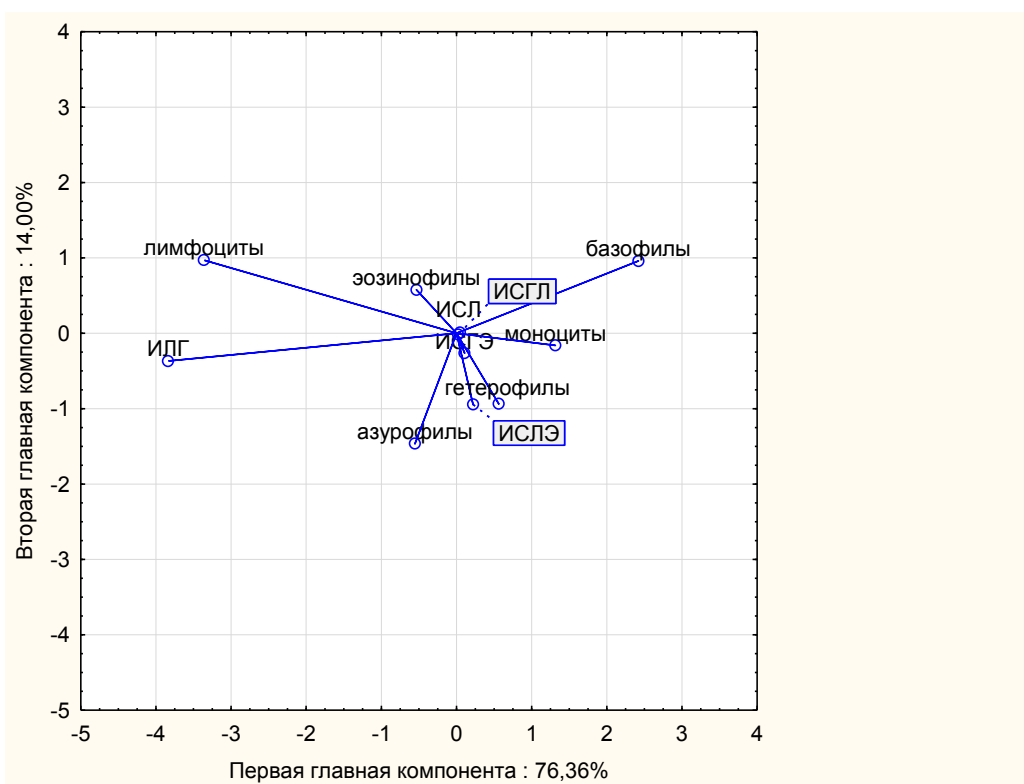


Рисунок 1. График факторных координат, построенный на основе интегральных лейкоцитарных показателей крови ядовитых и неядовитых змей

При этом первая компонента, с собственным максимальным значением 34.59 имела максимальную дисперсию и на 76% исчерпывала информацию

об изменчивости лейкоцитарного состава крови исследованных выборок; вторая главная компонента для значения 6.34 описывала 14.00% оставшейся общей информации и была менее информативна. В первую главную компоненту наибольший вклад вносили переменные лимфоциты (-0.95) и *ИЛГ* (-0.99) с сильными отрицательными корреляциями, а также, базофилы (0.90), моноциты (0.85), *ИСЛ* (0.91), с сильными положительными корреляциями. Вторая факторная ось коррелировала с переменной эозинофилов (-0.91), гетерофилов (-0.70) и *ИСГЭ* (-0.83) (рис. 1).

График рассеяния выборок в пространстве двух первых главных компонент визуализировал отличия лейкоцитарного профиля ядовитых и неядовитых змей. Ядовитые змеи группировались в области расположения векторов, отражающих специфические и сбалансированные адаптивные реакции (вектора: лимфоциты, *ИЛГ*). Расположение трех видов неядовитых ужовых змей в первом и втором квадрантах факторного пространства, обусловлено однонаправленными сдвигами в лейкоцитарной формуле крови за счет перераспределения доли гетерофилов и незрелых мононуклеарных клеток (эозинофилов) с преобладанием в адаптивных реакциях организма неспецифической составляющей (рис. 2).

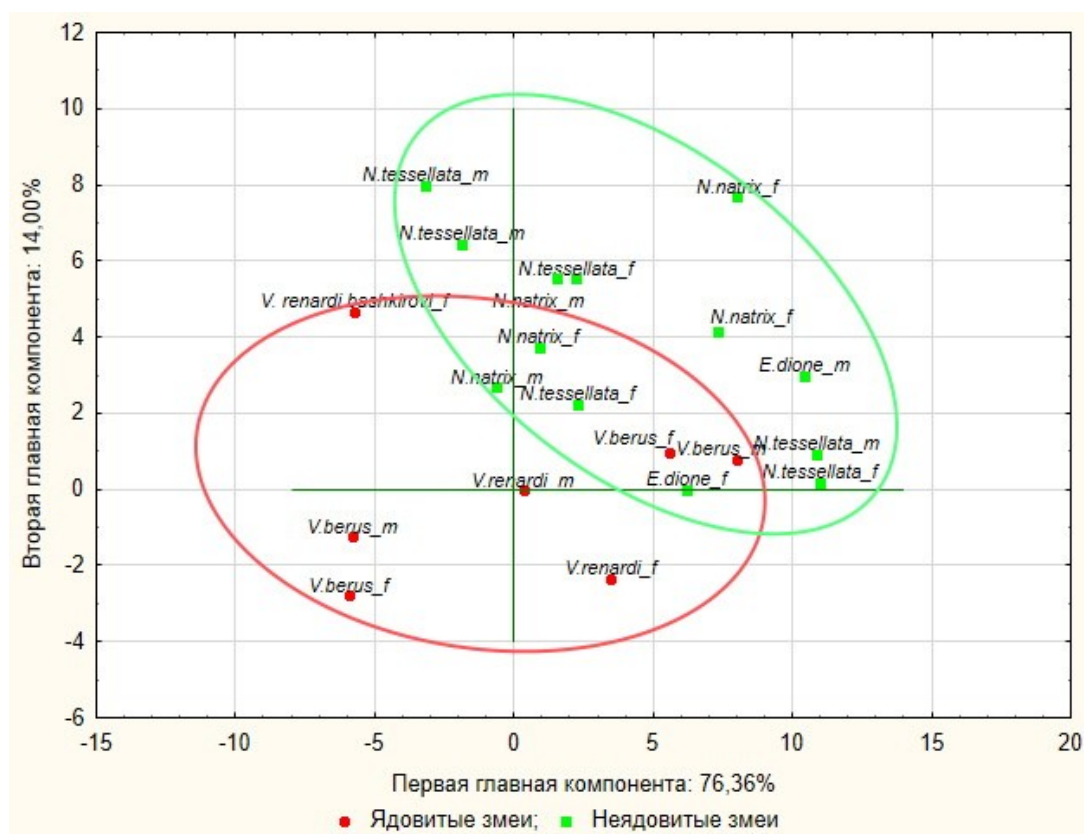


Рисунок 2. График рассеяния выборок ядовитых и неядовитых змей в пространстве двух первых главных компонент
m – males, самцы; f – females, самки

Результаты проведенного исследования, положения выносимые на защиты и выводы диссертации расширяют сложившиеся представления об особенностях и изменениях адаптивных реакциях системы крови рептилий, а также обосновывают необходимость дальнейшего исследования модулирующего воздействия комплекса биотических и абиотических факторов среды на иммунные ответные реакции организма с целью изучения эволюционного становления адаптивного иммунитета и прогноза возможности выживания рептилий в условиях нарастающего воздействия глобальных экологических трендов (изменения климата, роста неблагоприятных гидрометеорологических процессов, потери биоразнообразия и др.), способных оказывать влияние на состояние и устойчивость биосферы.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены гендерные, межгодовые и межвидовые различия лейкоцитарного профиля ядовитых змей. В крови самок гадюки обыкновенной отмечается активация неспецифической защитной системы крови. У самцов выявлено перераспределения баланса мононуклеаров (снижение числа лимфоцитов, увеличение количества моноцитов), что иллюстрирует снижение реакций специфического иммунитета и возрастание активности моноцитов, обеспечивающих адаптивное функционирование организма. Самки степной гадюки отличались от самок гадюки обыкновенной пониженным содержанием лимфоцитов и более низким значением индекса *ИЛГ*. Лейкоцитарный профиль самцов степной гадюки от гадюки обыкновенной отличался повышенным содержанием лимфоцитов, снижением индекса *ИСЛ* и возрастанием индекса *ИЛГ*, что свидетельствовало о более активном и своевременном иммунном ответе. Адаптивный ответ системы крови ядовитых змей (гадюки обыкновенной и гадюки степной) к комплексу факторов среды реализовался за счет перераспределения соотношения в крови гетерофилов и лимфоцитов.

2. Установлен лейкоцитарный профиль крови ксерофитного вида узорчатого полоза в условиях особо охраняемых природных территорий. Выявлена активация иммунных процессов у самок полоза по сравнению с самцами. Выявлены гендерные межгодовые и биотопические различия в лейкоцитарном составе крови ужа обыкновенного урбанизированной территории по сравнению с особями охраняемой территории, проявляющиеся пониженным содержанием: гетерофилов ($U = 2.95$, $p = 0.004$), базофилов ($U = 2.00$, $p = 0.04$) и повышенным: азурофилов ($U = 4.72$, $p < 0.001$), моноцитов ($U = 4.54$, $p < 0.001$). Установлено перераспределение соотношения гранулоцитов (гетерофилов) и мононуклеаров в крови ужа водяного из популяций разных биотопов Прикаспийской низменности.

3. Показана схожесть общих адаптивных реакций и лейкоцитарного профиля неядовитых гидрофильных видов ужей (обыкновенный и водяной) в условиях синтопического обитания; межвидовые различия затрагивали моноклеарный ряд лейкоцитарных клеток и проявлялись повышенным содержанием азурофилов в крови ужа обыкновенного по сравнению с водяным ужом.

4. Выявлены возрастные различия лейкоцитарного состава крови сеголетков гадюковых змей (*Vipera berus*, *V.b.nikolskii*). Сеголетки *V. berus* отличались от родивших их самок пониженным содержанием гетерофилов ($U = 2.40$, $p = 0.01$); сеголетки *V.b.nikolskii* отличались от самок пониженным содержанием азурофилов ($U = 2.50$, $p = 0.01$). Адаптивный ответ системы крови сеголетков гадюковых змей иллюстрировал более позднюю активацию лимфоцитов как эффекторного звена и несбалансированность иммунного ответа за счет недостаточности ресурса иммунокомпетентных клеток (агранулоцитов), по сравнению с показателями самцов и самок природных популяций.

5. Установлено преобладание в крови сеголетков узорчатого полоза *E. dione* гранулоцитов (эозинофилов и базофилов) при некотором отставании в реализации адаптивных реакций клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена, что свидетельствует о более поздней активации эффекторного звена иммунного ответа полоза по сравнению с сеголетками *N. natrix* и *N. tessellata*. По содержанию лимфоцитов изученные виды расположились в порядке убывания в следующем ряду: *N. natrix* ($Me - 60.00$, $IQR - 2.50$) $\rightarrow$ *N. tessellata* (52.00 , 6.00) $\rightarrow$ *E. dione* (40.00 , 5.00). Интегральные лейкоцитарные индексы, как маркеры популяционного гомеостаза организма, отражали несбалансированность адаптивного ответа системы крови у сеголетков, содержавшихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айтуарская степь – Оренбургская область. Географические особенности [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://russia.travel/objects/296357/>
2. Акуленко, Н.М. Возможно ли использование периферической крови рептилий для определения степени загрязнения биотопа? / Н.М. Акуленко // Праці українського герпетологічного товариства. – 2014. – № 5. – С. 3–11.
3. Ананьева, Н.Б. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус) / Н.Б. Ананьева, Н.Л. Орлов, Р.Г. Халиков, И.С. Даревский, С.А. Рябов, А.В. Барабанов. – СПб, 2004. – 232 с.
4. Астрадамов, В.И. Материалы к кадастру земноводных и пресмыкающихся Республики Мордовия / В.И. Астрадамов, С.П. Касаткин, В.А. Кузнецов, С.К. Потапов, А.Б. Ручин, Т.Б. Силаева // Материалы к кадастру амфибий и рептилий бассейна Средней Волги. Н. Новгород: Международный Социально-экологический союз, Экоцентр «Дронт». – 2002. – С. 167–185.
5. Астраханская область. Общие географические и исторические сведения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.mnr.gov.ru/activity/regions/astrakhanskaya_oblast/?sphrase_id=84141
6. Бакиев, А.Г. Содержание, эксплуатация и разведение гюрз в тольяттинском серпентарии (итоги экспериментальной работы) / А.Г. Бакиев, А.Л. Маленёв, Д.Б. Гелашвили // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2000. – Т. 2. – С. 339–343.
7. Бакиев, А.Г. Змеи Волжско-Камского края / А.Г.Бакиев, В.И.Гаранин, Н.А. Литвинов, А.В. Павлов, В.Ю. Ратников. – Самара: Изд-во СамНЦ РАН, 2004. – 192 с.
8. Бакиев, А.Г. Змеи Самарской области / А.Г. Бакиев, А.Л. Маленев, О.В. Зайцева, И.В. Шуршина. – Тольятти: ООО «Кассандра», 2009. – 170 с.

9. Бакиев, А.Г. Гадюки (Reptilia: Serpentes: Viperidae: *Vipera*) Волжского бассейна. Часть 1 / А.Г. Бакиев, В.И. Гаранин, Д.Б. Гелашвили и др. – Тольятти: Кассандра, 2015. – 234 с.
10. Барабой, В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В.А. Барабой. – Киев: Фитосоциоцентр, 2006. – 424 с.
11. Васильев, Д.Б. Ветеринарная герпетология / Д.Б. Васильев. – М.: Аквариум, 2016. – 392 с.
12. Васильева, Д.И. Природные ресурсы Самарской области / Д.И. Васильева, М.Н. Баранова // Самара: Самарский муниципальный институт управления. – 2007. – С. 9–40 с.
13. Вершинин, В.Л. Гемопоз бесхвостых амфибий – специфика адаптациогенеза видов в современных экосистемах / В.Л. Вершинин // Зоол. журн. – 2004. – Т. 83, № 11. – С. 1367–1374.
14. Вершинин, В.Л. Тератология амфибий — возможные адаптивная и эволюционная интерпретации / В.Л. Вершинин, Д.Л. Берзин, С.Д. Вершинина // Вестник СПбГУ. Сер. 3. – 2016. – Вып. 3. – С. 37–41.
15. Вершинин, В.Л. Аномалии амфибий как источник информации об адаптивном и эволюционном потенциале / В.Л. Вершинин, С.Д. Вершинина, Н.С. Неустроева // Известия РАН. Серия биологическая. – 2018. – № 2. – С. 216–224.
16. Воробьева, А.С. Сравнительная характеристика периферической крови змей Волжского бассейна / А.С. Воробьева // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии: Сб. науч. тр. Тольятти. – 2007. – Вып. 10. – С. 25–30.
17. Галактионов, В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 528 с.
18. Галактионов, В.Г. Эволюционная иммунология: учеб. Пособие / В.Г. Галактионов. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. – 408 с.

19. Гаркави, Л.Х. О принципе периодичности в развитии адаптационных реакций и ареактивности / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина // Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону. – 1990. – С. 64–100.
20. Гаркави, Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко. – М.: ИМЕДИС, 1998. – 656 с.
21. Гаранин, В.И. Степная гадюка, или гадюка Ренарда *Vipera renardi* (Christoph, 1861) / В.И. Гаранин, А.В. Павлов, А.Г. Бакиев, А.В. Павлов, В.Ю. Ратников // Змеи Волжско–Камского края. Самара: Изд-во СамНЦ РАН. – 2004. – С. 61–90.
22. Географическое положение Лысогорского района Саратовской области [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.lysyegory.ru/articles/60-1-geograficheskoe-polozhenie.html> (дата обращения 23.03.2022).
23. Гордеев, Д.А. Особенности распространения, биологии, экологии и морфологии ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linneaus, 1758) Волгоградской области / Д.А. Гордеев // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 150–153.
24. Давыгора, А.В. Узорчатый полоз / А.В. Давыгора // Красная книга Оренбургской области. Оренбург: Кн. изд-во. – 1998. – С. 82–83.
25. Дебело, П.В. Амфибии и рептилии Урало-Каспийского региона / П.В. Дебело, А.А. Чибилёв. – Сер.: Природное разнообразие Урало–Каспийского региона. Т. III. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2013. – 400 с.
26. Елисеева, И.Н. Эколого-биологические особенности обыкновенного ужа *Natrix natrix* в Мордовском государственном заповеднике / И.Н. Елисеева, Д.А. Ениватова // Труды национального парка «Смольный». – 2020. – Вып. 4. – С. 110–121.
27. Завьялов, Е.В. Генетическая характеристика популяций степной гадюки – *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae) Нижнего Поволжья и сопредельных территорий по результатам секвенирования митохондриальных генов цитохрома b и c, НАДН-дегидрогеназы и 12s

- рибосомной РНК / Е.В. Завьялов, Р.В. Ефимов, В.Г. Табачишин, О.А. Помазенко // Современная герпетология. – 2009. – Том 9, вып. 1/2. – С. 12–17.
28. Земсков, А.М. Иммунная реактивность и факторы внешней среды / А.М. Земсков, В.М. Земсков, Р.М. Хаитов, В.И. Золоедов // Физиология человека. – 1997. – Т. 23, № 6. – С. 98–105.
29. Идрисова, Л.А. Аберрации фолидоза рептилий: закономерности в топографии отклонений / Л.А. Идрисова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2019. – Вып. 2(26). – С. 60–66.
30. Кленина, А.А. Объем яиц в кладках обыкновенного ужа *Natrix natrix* и водяного ужа *N. tessellata*: работа над ошибками / А.А. Кленина, А.Г. Бакиев // Принципы экологии. – 2015. – Т. 4. № 4. – С. 11–21.
31. Кленина, А.А. Питание ужей рода *Natrix* в Волгоградской области / А.А. Кленина, Д.А. Гордеев, С.К. Прилипко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17. № 4 (4). – С. 718–720.
32. Климат городов и регионов России [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.meteonova.ru/klimat/> (дата обращения 23.03.2022).
33. Климат Саратовской области [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.meteonova.ru/klimat/64/Saratovskaya%20Oblast/> (дата обращения 23.03.2022).
34. Кудрявцев, С.В. Террариум: вчера, сегодня, завтра. Руководство для террариумистов / С.В. Кудрявцев, С.В. Мамет, Ю.Д. Журавлев. – М.: «Фитон XXI», 2019. – 421 с.
35. Купер, Э.Л. Сравнительная иммунология. / Э.Л. Купер – М.: Мир, 1980. – 442 с.
36. Лада, Г.А. Об оценке состояния окружающей среды по уровню флуктуирующей асимметрии у бесхвостых амфибий на примере озерной лягушки (*Rana ridibunda*) / Г.А. Лада, А.Н. Левин, Л.В. Артемова, Н.С. Рыбкина // Принципы экологии. – 2012. – № 3. – С. 82–88.

37. Лисничая, Е. Н. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий / Е.Н. Лисничая, В.Г. Ефимов // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. – 2014. – Т. 2, № 1. – С. 61–74.
38. Лобода, Е.И. Морфологические и цитохимические особенности клеток белой крови у представителей некоторых видов холонокровных позвоночных / Е.И. Лобода // Вестник зоологии. – 1998. – Т. 32. № 3. – С. 5–57.
39. Ломакина, О.С. Геоэкологическая характеристика Айтуарской степи / О.С. Ломакина, А.Н. Тюрин // Новое слово в науке и практике: гипотезы и апробация результатов исследований. – 2014. – №14. – с. 24–28.
40. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (Разработан и опубликован в 1985 г. Советом международных научных организаций) – Режим доступа: <http://www.google.ru/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwj5qKLV9ufSAhVJ1xQKHS43ABsQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.msu.ru%2Fbioetika%2Fdoc%2Frecom.doc&usg=AFQjCNEbuITOsnaEq4DOpFTrqKcwztiohA&cad=rjt> (дата обращения 23.03.2022).
41. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» // Женева. – 2012. – Режим доступа: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf
42. Павлов, А.В. Эколого-морфологическая характеристика обыкновенной гадюки (*Vipera berus* L.) в зависимости от условий естественной и искусственной среды: Дис. ... канд. биол. наук: 11.00.11 / Павлов Алексей Владиленович. – Казан. гос. ун-т, 1998. – 174 с.
43. Павлов, А.В. Естественная гибридизация гадюк восточной степной *Vipera renardi* и обыкновенной *V. berus* / А.В. Павлов, А.И. Зиненко, У. Йогер // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2011. – Т. 13. № 5. – С. 172–178.

44. Павлов, А.В. Система крови / А.В. Павлов, Р.Х. Юсупов, А.Г. Бакиев, В.И. Гаранин, Д.Б. Гелашвили // Гадюки (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera) Волжского бассейна. – 2015. – Часть 1. – С. 137–155.
45. Павлов, А.В. Ключевые моменты гематологии рептилий: особенности оценки лейкоцитарной части крови / А.В. Павлов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2019. – № 1 (25). – С. 138–152.
46. Пескова, Т.Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязненной среде: Дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16 / Пескова Татьяна Юрьевна. – Тольятти, 2004. – 284 с.
47. Пескова, Т.Ю. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязненной среде / Т.Ю. Пескова // Изв. вузов Северо-Кавказского региона. Естественные науки. – 2005. – № 3. – С. 66–70.
48. Петров, Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М.: Мир, 1990. – 384 с.
49. Помазенко, О.А. Морфогенетическая характеристика популяций восточной степной гадюки *Vipera renardi* Нижнего Поволжья и сопредельных территорий / О.А. Помазенко, В.Г. Табачишин // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2014. – Т. 14, вып. 4. – С. 104–109.
50. Постановление Правительства Оренбургской области от 16.04.2014 № 229-п «О внесении изменений в постановление Правительства Оренбургской области от 26 января 2012 года № 67-п». – 2014. – Режим доступа: http://oopt.aari.ru/sites/default/files/documents/pravitelstvo-Orenburgskoy-oblasti/N229-p_16-04-2014.pdf (дата обращения 23.03.2022).
51. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
52. Романова, Е.Б. Мониторинг состояния иммунной системы зеленых лягушек рода *Rana* в условиях антропогенной трансформации городской среды / Е.Б. Романова // Вестн. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – Вып. 1. – С. 131–134.

53. Романова, Е.Б. Иммунофизиологические характеристики популяций зеленых лягушек урбанизированной территории / Е.Б. Романова, В.Ю. Николаев // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2014. – Т. 16, № 5(1). – С. 616–622.
54. Романова, Е.Б. Лейкоцитарный состав крови обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) из Национального парка «Самарская Лука» / Е.Б. Романова, В.Ю. Николаев, А.Г. Бакиев, А.А. Клёнина // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 152–155.
55. Романова, Е.Б. Особенности лейкоцитарного состава крови самок обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) (Reptilia: Colubridae) Самарской области / Е.Б. Романова, В.Ю. Николаев, А.Г. Бакиев, А.А. Клёнина // Современная герпетология. – 2015. – Т. 15, вып.1/2. – С. 69–76.
56. Романова, Е.Б. Сравнительные данные о лейкоцитарном составе крови гадюки обыкновенной (*Vipera berus*) и гадюки восточной степной (*Vipera renardi*) / Е.Б. Романова, Е.И. Соломайкин, А.Г. Бакиев, Р.А. Горелов // Современная герпетология. – 2017. – Т. 17. № 1-2. – С. 51–55.
57. Ромейс, Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс; пер. с нем. проф. В.Я. Александрова и З. И. Крюкова; под ред. И.И. Соколова. – Москва: Изд-во иностр. лит., 1954. – 719 с.
58. Ручин, А.Б. Амфибии и рептилии Мордовии: эколого-фаунистический обзор / А.Б. Ручин, М.К. Рыжов // Поволжский экологический журнал. – 2003. – № 2. – С. 195–201.
59. Ручин, А.Б. Распространение и морфометрическая характеристика обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) из Мордовии / А.Б. Ручин, М.К. Рыжов, Е.А. Лобачев // Змеи Восточной Европы. Тольятти. – 2003. – С. 70–72.
60. Ручин, А.Б. О распространении змей на территории Мордовии / А.Б. Ручин, М.К. Рыжов, А.С. Лапшин // Современная герпетология. – 2005. – Т. 3/4. – С. 93–98.

61. Ручин, А.Б. Амфибии и рептилии Мордовии: видовое разнообразие, распространение, численность / А.Б. Ручин, М.К. Рыжов – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2006. – 160 с.
62. Селье, Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. – М., 1979. – 123с.
63. Соколина, Ф.М. Гематология пресмыкающихся. Методическое пособие к курсу герпетологии, большому практикуму и семинарам / Ф.М. Соколина, А.В. Павлов, Р.Х. Юсупов – Казань: Казанский университет, 1997. – 31 с.
64. Табачишин, В.Г. Распространение и особенности экологии обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) на севере Нижнего Поволжья / В.Г. Табачишин, И.Е. Табачишина // Поволжский экологический журнал. – 2002. – № 2. – С. 179–183.
65. Табачишина, И.Е. Динамика роста степной гадюки (*Vipera renardi*) и гадюки никольского (*V. nikolskii*) на севере Нижнего Поволжья / И.Е. Табачишина, В.Г. Табачишин, Е.В. Завьялов // Biosystems Diversity. – 2003. – №11. – С. 218–222.
66. Табачишин, В.Г. Использование дополнительных признаков в прижизненном определении пола у гадюки никольского (*Vipera nikolskii*) / В.Г. Табачишин, Е.В. Завьялов, С.С. Мосияш, И.Е. Табачишина // Современная герпетология. – 2007. – Том 7, вып. 1/2. – С. 111–116.
67. Ткаченко, Е.А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей / Е.А. Ткаченко, М.А. Дерхо // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 3. – С. 81–83.
68. Хаитов, Р.М. Экологическая иммунология / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. – М.: ВНИРО, 1995. – 219 с.
69. Хаитов, Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 328 с.
70. Хайрутдинов, И.З. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями среды обитания / И.З. Хайрутдинов, Ф.М. Соколина – Казань: Казанский университет, 2010. – 44 с.

71. Хамидов, Д.Х. Кровь и кроветворение у позвоночных животных / Д.Х. Хамидов, А.Т. Акимов, А.А. Турдыев – Ташкент: Фан, 1978. – 168 с.
72. Чибилёв, А.А. Герпетофауна госзаповедника «Оренбургский» / А.А. Чибилёв // Вторая конференция герпетологов Поволжья: Тезисы докладов. Тольятти. – 1999. – С. 55–56.
73. Чугуевская, Н.М. Ужи (Serpentes, Colubridae, Natrix) Волжского бассейна: Экология и охрана: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Наталья Михайловна Чугуевская. – Тольятти, 2005. – 20с.
74. Шляхтин, Г.В. Экология питания обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) на севере Нижнего Поволжья / Г.В. Шляхтин, В.Г. Табачишин, Е.В. Завьялов // Современная герпетология: Сборник научных трудов. – 2005. – Т. 3/4. – С. 111–116.
75. Шляхтин, Г.В. Природоохранный статус амфибий и рептилий Саратовской области / Г.В. Шляхтин, В.Г. Табачишин, М.В. Ермохин // Современная герпетология. – 2016. – Т. 16, вып. 3/4. – С. 171–175.
76. Ямашкин, А.А. География Республики Мордовия: Учеб. пособие / А.А. Ямашкин, В.В. Руженков, Ал.А. Ямашкин. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та. – 2004. – 168 с.
77. Afifi, A. Seasonal conditions determine the manner of rejection in reptiles / A. Afifi, E.R. Mohamed, R. El Ridi // J. Exp. Zool. – 1993. – V. 265. – P. 459–468.
78. Alleman, A.R. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) / A.R. Alleman, E.R. Jacobson, R.E. Raskin // American Journal of Veterinary Research. – 1992. – Vol. 53 (9). – P. 1645–1651.
79. Allender, M.C. Hematology, plasma biochemistry, and antibodies to select viruses in wild-caught Eastern massasauga rattlesnakes (*Sistrurus catenatus catenatus*) from Illinois / M.C. Allender, M.A. Mitchell, C.A. Phillips, K. Gruszynski, V.R. Beasley // Journal of Wildlife Diseases. – 2006. – V. 42. – P. 107–114.

80. Amaral, J.P.S. The influence of bacterial lipopolysaccharide on the thermoregulation of the box turtle *Terrapen carolina* / J.P.S. Amaral, G.A. Marvin, V.H. Hutchison // *Physiol. Biochem. Zool.* – 2002. – V. 75. – P. 273–282.
81. Araki, T. Reptile lysozyme: the complete amino acid sequence of soft-shelled turtle lysozyme and its activity / T. Araki, T. Yamamoto, T. Torikata // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 1998. – V. 62. – P. 316–324.
82. Arican, H. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna / H. Arican, K. Cicek // *Acta Herpetologica.* – 2010. – V. 5. No. 2. – P. 179–198.
83. Arican, H. Haematology of amphibians and reptiles: a review / H. Arican, K. Cicek // *North-Western journal of zoology.* – 2014. – Vol. 10, No 1. – P. 190–209.
84. Asztalos, M. It takes two to tango – Phylogeography, taxonomy and hybridization in grass snakes and dice snakes (Serpentes: Natricidae: *Natrix natrix*, *N. tessellata*) / M. Asztalos, D. Ayaz, Y. Bayrakci, M. Afsar, C.V. Tok, C. Kindler, D. Jablonski, U. Fritz // *Vertebrate Zoology.* – 2021. – Vol. 71. – P. 813–834.
85. Bailey, F.C. Adrenocortical effects of human encounters on freeranging Cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*) / F.C. Bailey, V.A. Cobb, T.R. Rainwater, T. Worrall, M. Klukowski // *Journal of Herpetology.* – 2009. – V. 43. – P. 260–266.
86. Bakiev, A. Diet and Parasitic Helminths of Dice Snakes from the Volga Basin, Russia / A. Bakiev, A. Kirillov, K. Mebert // *The Dice Snake, Natrix tessellata: Biology, Distribution and Conservation of a Palearctic Species.* – Mertensiella. – 2011. – N. 18. – P. 325–329.
87. Bell, K. White blood cells in Northwestern Gartersnakes (*Thamnophis ordinoides*) / K. Bell, P. Gregory // *Herpetology Notes.* – 2014. – V. 7. – P. 535–541.
88. Berger, S. Corticosterone suppresses immune activity in territorial Galapagos marine iguanas during reproduction / S. Berger, L.B. Martin, M. Wikelski, L.M. Romero, E.K.V. Kalko, M.N. Vitousek, T. Rodl // *Horm. Behav.* – 2005. – V. 47. – P. 419–429.

89. Benedict, A.A. Three classes of immunoglobulins found in the sea turtle, *Chelonia mydas* / A.A. Benedict, L.W. Pollard // Folia. Microb. – 1972. – V.17. – P. 75.
90. Borysenko, M. Lymphoid tissue in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* / M. Borysenko, E.L. Cooper // J. Morph. – 1972. – V. 138. – P. 487.
91. Burnham, D.K. T cell function in tuatara (*Sphenodon punctatus*) / D.K. Burnham, S.N. Keall, N.J. Nelson, C.H. Daugherty // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. – 2005. – V. 28. – P. 213–222.
92. Cabagna, M.C. Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agro ecosystems of Santa Fe Province, Argentina / M.C. Cabagna, R.C. Lajmanovich, G. Stringhini, J.C. Sanchez-Hernandez, P.M. Peltzer // Applied Herpetology. – 2005. – Vol. 2. – P. 373–380.
93. Campbell, T.W. Clinical pathology. Reptile medicine and surgery / T.W. Campbell // W.B. Saunders Company, Philadelphia (Pa.). – 1996. – P. 248–257.
94. Campbell, T.W. Clinical pathology of reptiles / T.W. Campbell // Reptile medicine and surgery. 2nd edition. St. Louis (MO): Saunders Publishing. – 2006. – P. 453–470.
95. Chattopadhyay, S. Small cationic protein from a marine turtle has p-defensin-like fold and antibacterial and antiviral activity / S. Chattopadhyay, N.K. Sinha, S. Banerjee, D. Roy, D.D. Chattopadhyay, S. Roy // Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. – 2006. – V. 64. – P. 524–531.
96. Claver, J.A. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates / J.A. Claver, A.I.E. Quaglia // Journal of Exotic Pet Medicine. – 2009. – V. 18. – P. 87–97.
97. Coe, J.E. Immune response in the turtle (*Chrysemys picta*) / J.E. Coe // Immunology. – 1972. – V. 23. – P. 45.
98. Coico, R. Immunology. A Short Course / R. Coico. – Hoboken, NJ: Wiley-Liss Publications, 2003. – P. 500
99. Cooper, E.L. Comparative immunology / E.L. Cooper. – Engle Wood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1976. – P. 422

100. Cooper, E.L. Reptilian Immunity / E.L. Cooper, A.E. Klempau, A.G. Zapata // Biol. Reptilia. New York. – 1985. – V. 14. – P. 601–636.
101. Cuchens, M.A. Phylogeny of lymphocyte diversity. III. Mitogenic responses of reptilian lymphocytes / M.A. Cuchens, L.W. Clem // Dev. Comp. Immunol. – 1979. – V. 3. – P. 287–297.
102. Cuchens, M.A. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity. IV. Evidence for T-like and B-like cells in reptiles / M.A. Cuchens, L.W. Clem // Dev. Comp. Immunol. – 1979. – Vol. 3. – P. 465–475.
103. Dabrowski, Z. Haematopoiesis in snakes (Ophidia) in early postnatal development / Z. Dabrowski, I.S. Sano Martins, Z. Tabarowski // Cell. Tissue Res. – 2007. – V. 328. – P. 291–299.
104. Davis, A.K. Leukocyte profiles of House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease / A.K. Davis, K.C. Cook, S. Altizer // Ecohealth. – 2004. – V. 1. – P. 362–373.
105. Davis, A.K. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists / A.K. Davis, D.L. Maney, J.C. Maerz // Functional Ecology. – 2008. – V. 22. – P. 760–772.
106. Davis, A.K. Sex-related differences in hematological stress indices of breeding, paedomorphic mole salamanders / A.K. Davis, J.C. Maerz // Journal of Herpetology. – 2008. – Vol.42. – P. 197–201.
107. Davis, A.K. Effect of trapping method on leukocyte profiles of Black-Chested Spiny-Tailed Iguanas (*Ctenosaura melanosterna*): implications for zoologists in the field / A.K. Davis, L.E. Ruyle, J.C. Maerz // ISRN Zoology. – 2011. – V. 2011. – P. 1–8.
108. Day, R.D. Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) / R.D. Day, A.L. Segars, M.D. Arendt, A.M. Lee, M.M. Peden–Adams // Environ. Health Perspect. – 2007. – V. 115. – P. 1421–1428.

109. Deza, F.G. A novel IgA-like immunoglobulin in the reptile *Eublepharis macularius* / F.G. Deza, C.S. Espinel, J.V. Beneitez // Dev. Comp. Immunol. – 2007. – V. 31. – P. 596–605.
110. Deza, F.G. IgD in the reptile leopard gecko / F.G. Deza, C.S. Espinel // Mol. Immunol. – 2008. – V. 45. – P. 3470–3476.
111. Dickinson, V.M. Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona / V.M. Dickinson, J.L. Jarchow, M.H. Trueblood // Journal of Wildlife Diseases. – 2006. – V. 38. – P. 143–153.
112. El Ridi, R. Effect of seasonal variations on the immune system of the snake, *Psammophis schokar* / R. El Ridi, N. Badir, S. El Rouby // J. Exp. Zool. – 1981. – V. 216. – P. 357–365.
113. El Ridi, R. Characterization of snake interleukin 2 / R. El Ridi, A.F. Wahby, A.H. Saad // Dev. Comp. Immunol. – 1986. – V. 10. – P. 128.
114. El Ridi, R. Concanavalin A responsiveness and interleukin 2 production in the snake *Spalerosophis diadema* / R. El Ridi, A.F. Wahby, A.H. Saad, M.A.W. Soliman // Immunobiology. – 1987. – V. 174. – P. 177–189.
115. El Ridi, R. Cyclic changes in the differentiation of lymphoid cells in reptiles / R. El Ridi, S. Zada, A. Afifi, S. El Deeb, S. El Rouby, M. Farag, A.H. Saad // Cell Differ. – 1988. – V. 24. – P. 1–8.
116. Eliman, M.M. Hematology and plasma chemistry of the Inland bearded dragon / M.M. Eliman // Bull. Ass. Rep. Amph. Vet. – 1997. – V. 7. No 4. – P.15–26.
117. Farag, M.A. Mixed leucocyte reaction (MLR) in the snake *Psammophis sibilans* / M.A. Farag, R.El Ridi // Immunology. – 1984. – V. 55. – P.173–181.
118. Farag, M.A. Functional markers of the major histocompatibility gene complex of snakes / M.A. Farag, R.El Ridi // Eur. J. Immunol. – 1990. – V. 20. – P. 2029–2033.
119. Frye, F.L. Hematology as applied to clinical reptile medicine // Biomedical and surgical aspect of captive reptile husbandry. /F.L. Frye // Malabar, Florida: Krieger Publishing Co. – 1991. – V. 1. – P. 209–280.

120. Galabov, A.S. Interferon production in tortoise peritoneal cells / A.S. Galabov, E.H. Velichkova // J. Gen. Virol. – 1975. – V. 28. – P. 259–263.
121. Gayen, S.K. Lysozyme in egg whites of tortoises and turtle: Purification and properties of egg white lysozyme of *Trionyx gangeticus cuvier* / S.K. Gayen, S. Som, N.K. Sinha, A. Sen // Arch. Biochem. Biophys. – 1977. – V. 183. – P. 432–442.
122. Ganz, T. Defensins: antimicrobial peptides of vertebrates / T. Ganz // C. R. Biologies. – 2003. – V. 327. – P. 539–549.
123. Geisberger, R. The riddle of the dual expression of IgM and IgD / R. Geisberger, M. Lamers, G. Achatz // Immunology. – 2006. – V. 118. – P. 429–437.
124. Grey, H.M. Phylogeny of the immune response: studies on some physical chemical and serological characteristics of antibody produce in the turtle / H.M. Grey // J. Immunol. – 1963. – V. 91. – P. 819.
125. Guillette, L.J. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida / L.J. Guillette, T.S. Gross, G.R. Masson, J.M. Matter, H.F. Percival, A.R. Woodward // Environ. Health Perspect. – 1994. – V. 102. – P. 680–688.
126. Hawkey, C.M. Color Atlas of Comparative Veterinary Hematology / C.M. Hawkey, T.B. Dennett. – Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1989. – P. 181
127. Hussein, M.F. Effect of seasonal variation on lymphoid tissues of the lizards, *Mabuya Quinquetaeniata* licht and *Uromastyx aegyptia* forsk / M.F. Hussein, N. Badir, R. El Ridi, M. Akef // Dev. Comp. Immunol. – 1978. – V. 2. – P. 469–478.
128. Hussein, M.F. Effect of splenectomy on the humoral immune response in the lizard, *Scincus scincus* / M.F. Hussein, N. Badir, R. El Ridi, S. El Deeb // Cell. Mol. Life Sci. – 1979. – V. 35. – P. 869–870.
129. Ingram, G.A. The humoral immune response of the spiny-tailed agamid lizard (*Agama Caudospinosum*) to injection with *Leishmania agamae* promastigotes / G.A. Ingram, D.H. Molyneux // Vet. Immunol. Immunopathol. – 1983. – V. 4. – P. 479–491.

130. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. – 2012. – URL: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf (дата обращения 23.03.2022).
131. Iwata, A. Cloning and expression of the turtle (*Trachemys scripta*) immunoglobulin joining (J)-chain cDNA / A. Iwata, T. Iwase, Y. Ogura, T. Takahashi, N. Matsumoto, T. Yoshida, N. Kamei, K. Kobayashi, J. Mestecky, I. Moro // Immunogenetics. – 2002. – V. 54. – P. 513–519.
132. Jain, N.C. Essentials of Veterinary Hematology / N.C. Jain. - Lea and Febiger, Philadelphia, 1993. – P. 417
133. Jurd, R.D. Reptiles and birds. In Immunology: A Comparative Approach (ed. R. J. Turner) / R.D. Jurd // West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd. – 1994. – P. 137–172.
134. Kanakambika, P. Effect of splenectomy on the immune response in the lizard, *Calotes versicolor* / P. Kanakambika, V.R. Muthukkaruppan // Cell. Mol. Life Sci. – 1972. – V. 28. – P. 1225–1226.
135. Keller, J.M. Mitogen-induced lymphocyte proliferation in loggerhead sea turtles: comparison of methods and effects of gender, plasma testosterone concentration, and body condition on immunity / J.M. Keller, P.D. McClellan–Green, A.M. Lee, M.D. Arendt, P.P. Maier, A.L. Segars, J.D. Whitaker, D.E. Keil, M.M. Peden–Adams // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2005. – V. 103. – P. 269–281.
136. Keller, J.M. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments / J.M. Keller, P.D. McClellan–Green, J.R. Kucklick, D.E. Keil, M.M. Peden–Adams // Environ. Health Perspect. – 2006. – V. 114. – P. 70–76.
137. Kluger, M.J. Fever and survival / M.J. Kluger, D.H. Ringler, M.R. Anver // Science. – 1975. – V. 188. – P. 166–168.

138. Kobolkuti, L. The Effects of Environment and Physiological Cyclicity on the Immune System of Viperinae / L. Kobolkuti, D. Cadar, G. Czirjak, M. Niculae // The Scientific World Journal. – 2012. – Vol. 4. – P. 6.
139. Kroese, F.G.M. The architecture of the spleen of the red-eared slider, *Chrysemys scripta elegans* (Reptilia, Testudines) / F.G.M. Kroese, N. Van Rooijen // J. Morphol. – 1982. – V. 173. – P. 279–284.
140. Kruman, I.I. Comparative analysis of cell replacement in hibernators / I.I. Kruman // Comp. Biochem. Physiol. – 1992. – V. 101A. – P. 11–18.
141. Kvell, K. Blurring borders: innate immunity with adaptive features / K. Kvell, E.L. Cooper, P. Engelmann, J. Bovari, P. Nemeth // Clin. Dev. Immunol. – 2007. – V. 2007 – P. 83671.
142. Lakshminarayanan, R. Structure, self-assembly, and dual role of a p-defensin-like peptide from the Chinese soft-shelled turtle eggshell matrix / R. Lakshminarayanan, S. Vivekanandan, R.P. Samy, Y. Banerjee, E.O. Chi-Jin, K.W. Teo, S.D. S. Jois, R.M. Kini, S. Valiyaveetil // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – V. 130. – P. 4660–4668.
143. LeBlanc, C.J. A review of the morphology of lizard leukocytes with a discussion of the clinical differentiation of bearded dragon, *Pogona vitticeps*, leukocytes / C.J. LeBlanc, J.J. Heatley, E.B. Mack // Journal of Herpetological Medicine and Surgery. – 2000. – Vol. 10. – P. 27–30.
144. Leslie, G.A. Phylogeny of immunoglobulin structure and finction. VI. 17S, 7,5S and 5,7S anti-DNP of the turtle, *Pseudamys scripta* / G.A. Leslie, L.W. Clem // J. Immunol. – 1972. – V. 108. – P. 1656.
145. Lisicic, D. 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 / D. Lisicic, D. Dikic, V. Benkovic, A.H. Knezevic // Zoological studies. – 2013. – Vol. 52. N. 1. – P. 11–20.
146. Litvinov, N. Thermobiology and Microclimate of the Dice Snake at its Northern Range Limit in Russia / N. Litvinov, A. Bakiev, K. Mebert // The Dice

Snake, *Natrix tessellata*: Biology, Distribution and Conservation of a Palearctic Species, Mertensiella. – 2011. – N. 18. – P. 330–335.

147. Lupien, S.J. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition / S.J. Lupien, B.S. McEwen, M.R. Gunnar, C. Heim // Nature Reviews Neuroscience. – 2009. – V. 10. – P. 434–445.

148. Lynch, H.E. Thymic involution and immune reconstitution / H.E. Lynch, G.L. Goldberg, A. Chidgey, M.R.M. Van den Brink, R. Boyd, G. D. Sempowsk // Trends Immunol. – 2009. – V. 30. – P. 366–373.

149. Mader, D.R. Normal Hematology of Reptiles / D.R. Mader // Schalm's veterinary hematology: veterinary hematology. Philadelphia, Blackwell Publishing. – 2000. – P. 1126–1132.

150. Marchalonis, J.J. Immune response of the tuatara, *Sphenodon punctatum* / J.J. Marchalonis, E.H.M. Ealey, E. Diener // Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. – 1969. – V. 47. – P. 367–380.

151. Martinez-Silvestre, A. Morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells of the giant lizard El Hierro (*Gallotia simonyi*) / A. Martinez-Silvestre, I. Marco, M.A. Rodriguez-Dominguez, S. Lavin, R. Cuenca // Research in Veterinary Science. – 2005. – Vol. 78. – P. 127–134.

152. Mathews, J.H. Interferon-mediated persistent infection of Saint Louis Encephalitis virus in a reptilian cell line / J.H. Mathews, A.V. Vorndam // J. Gen. Virol. – 1982. – V. 61. – P. 177–186.

153. Medzhitov, R. Innate immune recognition: mechanisms and pathways / R. Medzhitov, C. Jr. Janeway // Immunol. Rev. – 2000. – Vol. 173. – P. 89–97.

154. Merchant, M. Antibacterial properties of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*) / M. Merchant, C. Roche, R.M. Elsey, J. Prudhomme // Comp. Biochem. Physiol. – 2003. – V. 136. – P. 505–513.

155. Merchant, M. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*) / M. Merchant, M. Pallansch, R.L. Paulman, J.B. Wells, A. Nalca, R. Ptak // Antiviral Res. – 2005. – V. 66. – P. 35–38.

156. Merchant, M. Characterization of serum complement activity of saltwater (*Crocodylus porosus*) and freshwater (*Crocodylus johnstoni*) crocodiles / M. Merchant, A. Britton // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 2006. – V. 143. – P. 488–493.
157. Merchant, M. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*) / M. Merchant, S. Williams, P.L. Trosclair, R.M. Elsey, K. Mills // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 2007. – V. 148. – P. 921–925
158. Metin K. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European Pond turtle *Emys orbicularis* / O. Turkozan, F. Kargin, Y. Basimoglu Koca, E. Taskavak, Koca S. // *Acta. Vet. Brno.* – 2006. – V. 75. – P. 49–55.
159. Mondal, S. In vitro effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis* / S. Mondal, U. Rai // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2001. – V. 129. – P. 391–398.
160. Montali, R.J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) / R.J. Montali // *J. Comp. Pathol.* – 1988. – V. 99. – P. 1–26.
161. Moore, I.T. Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles / I.T. Moore, T.S. Jessop // *Hormones and Behavior.* – 2003. – V. 43. – P. 39–47.
162. Munoz, F.J. The effect of the seasonal cycle on the splenic leukocyte functions in the turtle *Mauremys caspica* / F.J. Munoz, M. De la Fuente // *Physiol. Biochem. Zool.* – 2001. – V. 74. – P. 660–667.
163. Munoz, F.J. Identification of CD3⁺ T lymphocytes in the green turtle *Chelonia mydas* / F.J. Munoz, S. Estrada-Parra, A. Romero-Rojas, T.M. Work, E. Gonzalez-Ballesteros, I. Estrada-Garcia // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2009. – V. 131. – P. 211–217.
164. Natarajan, K. Distribution and ontogeny of B cells in the garden lizard, *Calotes versicolor* / K. Natarajan, V.R. Muthukkaruppan // *Dev. Comp. Immunol.* – 1985. – V. 9. – P. 301–310.

165. Oros, J. Microscopic studies on characterization of blood cells of endangered sea turtles / J. Oros, A.B. Casal, A. Arencibia // Microscopy: science, technology, application and education A. Mendez-Vilas and J. Dias (Eds.). – 2010. – Vol. 1. – P. 75–84.
166. Origgi, F.C. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting herpesvirus exposure in Mediterranean tortoises (spur-thighed tortoise [*Testudo graeca*] and Hermann's tortoise [*Testudo hermanni*]) / F.C. Origgi, P.A. Klein, K. Mathes, S. Blahak, R.E. Marschang, S.J. Tucker, E.R. Jacobson // J. Clin. Microbiol. – 2001. – V. 39. – P. 3156–3163.
167. Perpignan, D. Comparison of three different techniques to produce blood smears from Green Iguanas, *Iguana iguana* / D. Perpignan, S. Hernandez-Divers, M. McBride, S. Hernandez-Divers // Journal of Herpetological Medicine and Surgery. – 2006. – V. 16. – P. 99–101.
168. Preecharram, S. Antibacterial activity from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum / S. Preecharram, S. Daduang, W. Bunyatratchata, T. Araki, S. Thammasirirak // Afr. J. Biotechnol. – 2008. – V. 7. – P. 3121–3128.
169. Pye, G.W. Experimental inoculation of broad-nosed caimans (*Caiman latirostris*) and Siamese crocodiles (*Crocodyllus siamensis*) with *Mycoplasma alligatoris* / G.W. Pye, D.R. Brown, M.F. Nogueira, K.A. Vliet, T.R. Schoeb, R.A. Bennett // J. Zoo. Wildl. Med. – 2001. – V. 32. – P. 196–201.
170. Rafffel, T.R. Negative effects of changing temperature on amphibian immunity under field conditions / T.R. Rafffel, J.R. Rohr, J.M. Kiesecker, P.J. Hudson // Func. Ecol. – 2006. – V. 20. – P. 819–828.
171. Saad, A.H. Sex-associated differences in the mitogenic responsiveness of snake blood lymphocyte / A.H. Saad // Dev. Comp. Immunol. – 1989. – V. 13. – P. 225–229.
172. Saint Girons, M.C. Morphology of the circulating blood cells / M.C.Saint Girons, C.Gans, // Biology of Reptilia (Vol. 3). Academic Press, London & New York. – 1970. – V. 3. – P. 73–91.

173. Salakij, C. Comparative hematology, morphology and ultra-structure of blood cells in Monocellate cobra (*Naja kaouthia*), Siamese spitting cobra (*N. siamensis*) and Golden spitting cobra (*N. sumatrana*) / C. Salakij // Kasetart Journal (Natural Science). – 2002. – Vol. 36. – P. 291–300.
174. Santos, K.R. Pulmonary, microbiological and hematological changes in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae) parasitized by nematodes of the genus *Rhabdias* (Nematoda, Rhabdiasidae) / K.R. Santos, R.K. Takahira, V.L. M.Rall, C. Calderon, J.L.equeira, R.J.ilva // Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. – 2008. – V. 60. – P. 667–674.
175. Seelen, M.A.J. Role of complement in innate and autoimmunity / M.A.J. Seelen // J. Nephrol. – 2005. – V. 18. – P. 642–653.
176. Sindaco, R. The Reptiles of the Western Palearctic. 2. Annotated Checklist and Distributional Atlas of the Snakes of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia, with an update to the Societas Herpetologica Italica / R. Sindaco, A. Venchi, C. Grieco // Latina Edizioni Belvedere. – 2013. – Vol. 1. – P. 544.
177. Snoeijs, T. Kinetics of primary antibody responses to sheep red blood cells in birds: a literature review and new data from great tits and European starlings / T. Snoeijs, M. Eens, E. Van Den Steen, R. Pinxten // Anim. Biol. – 2007. – V. 57. – P. 79–95.
178. Stacy, N. Diagnostic Hematology of Reptiles / N. Stacy, A.R. Alleman, F. Sayler // Clin. Lab. Med. – 2011. – Vol. 31. – P. 87–108.
179. Stegemann, C. Isolation, purification and de novo sequencing of TBD-1, the first beta-defensin from leukocytes of reptiles / C. Stegemann, A. Kolobov, Y.F. Leonova, D. Knappe, O. Shamova, T.V. Ovchinnikova, V.N. Kokryakov, R. Hoffmann // Proteomics. – 2009. – V. 9. – P. 1364–1373.
180. Sypek, J.P. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* / J.P. Sypek, M. Borysenko, S.R. Findlay // Dev. Comp. Immunol. – 1984. – V. 8. – P. 359–366.
181. Tavares-Dias, M. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, *Podocnemis expansa*): an analysis

and discussion / M. Tavares-Dias, A.A. Oliveira-Junior, J.L. Marcon // *Acta Amazonica*. – 2008. – Vol. 38 (2). – P. 351–356.

182. Thammasirirak, S. Purification, characterization and comparison of reptile lysozymes / S. Thammasirirak, P. Ponkham, S. Preecharram, R. Khanchanuan, P. Phonyothee, S. Daduang, C. Srisomsap, T. Araki, J. Svasti // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2006. – V. 143. – P. 209–217.

183. Thrall, M.A. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* / M.A. Thrall et al. – 2nd Edition. – Wiley-Blackwell, 2012. – P. 776.

184. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3. – 2017. – Available at: www.iucnredlist.org.

185. Tok, C.V. Erythrocyte count and size in some colubrids (Reptilia: Ophidia) from Turkey / C.V. Tok, M. Tosunoglu, C. Gul, B. Yigini, M. Turkakın, G. Saruhan, S. Kaya // *Russian Journal of Herpetology* – 2006. – V. 13. – P. 97–100.

186. Tomasinsig, L. The Cathelicidins – structure, function, and evolution / L. Tomasinsig, M. Zanetti // *Curr. Protein Pept.* – 2005. – V. 6. – P. 23–34.

187. Tosunoglu, M. An investigation on the blood cells of the leopard gecko, *Eublepharis angramainyu* (Reptilia: Sauria: Eublepharidae) / M. Tosunoglu, D. Ayaz, C.V. Tok, B. Dulger // *Asiatic Herpetologica Research*. – 2004. – V. 10. – P. 230–234.

188. Tosunoglu, M. Hematological reference intervals of some snake species in Turkey / M. Tosunoglu, C. Gul, N. Yilmaz, H. Topyildiz // *Turk J Zool.* – 2011. – V. 35. – P. 237–243.

189. Troiano, J.C. Hematological values of some *Bothrops species* (OphidiaCrotalidae) in captivity / J.C. Troiano, J.C. Vidal, E.F. Gould, J. Heker, J. Gould, A.U. Vogt, C. Simoncini, E. Amantini, A. De Roodt // *Journal of Venomous Animals and Toxins*. – 2000. – V. 6. – P. 194–204.

190. Turchin, A. The generation of antibody diversity in the turtle / A. Turchin, E. Hsu // *J. Immunol.* – 1996. – V. 156. – P. 3797–3805.

191. Ujvari, B. Age, parasites, and condition affect humoral immune response in tropical pythons / B. Ujvari, T. Madsen // *Behav. Ecol.* – 2005. – V. 17. – P. 20–24.
192. Vitt, L.J. *Herpetology* / L.J. Vitt, J.P. Caldwell. - New York: Elsevier, 2009. – P. 720.
193. Waits, D. The utility of reptile blood transcriptomes in molecular ecology / D. Waits, D. Simpson, A. Sparkman, A. Bronikowski, T. Schwartz // *Molecular Ecology Resources.* – 2019. – V. 20. – P. 308–317.
194. Wang, Y. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotic / Y. Wang, J. Hong, X. Liu, H. Yang, R. Liu, J. Wu, A. Wang, D. Lin, R. Lai // *PLoS One.* – 2008. – V. 3. – e3217.
195. Warr, G.W. IgY: clues to the origins of modern antibodies / G.W. Warr, K.E. Magor, D.A. Higgins // *Immunol. Today.* – 1995. – V. 16. – P. 392–398.
196. Wei, Z. Expression of IgM, IgD, and IgY in a reptile, *Anolis carolinensis* / Z. Wei, Q. Wu, L. Ren, X. Hu, Y. Guo, G.W. Warr, L. Hammarstrom, N. Li, Y. Zhao // *J. Immunol.* – 2009. – V. 183. – P. 3858–3864.
197. Work, T.M. Assessing humoral and cell-mediated immune response in Hawaiian green turtles, *Chelonia mydas* / T.M. Work, G.H. Balazs, R.A. Rameyer, S.P. Chang, J. Berestecky // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2000. – V. 74. – P. 179–194.
198. Yuyan, Lu. Development of thymus gland in snake / Lu Yuyan, Li Pipeng // *J. Morphol.* – 2001. – V. 248. No. 3. – P. 256.
199. Zapata, A.G. Reptilian bone marrow. An ultrastructural study in the Spanish lizard, *Lacerta hispanica* / A.G. Zapata, J. Leceta, A. Villena // *J. Morphol.* – 1981. – V. 168. – P. 137–149.
200. Zapata, A.G. Ultrastructure of splenic white pulp of the turtle, *Mauremys caspica* / A.G. Zapata, J. Leceta, M.G. Barrutia // *Cell Tissue Res.* – 1981. – V. 220. – P. 845–855.

201. Zapata, A.G. Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates / A.G. Zapata, A. Varas, M. Torroba // Immunol. Today. – 1992. – V. 13. – P. 142–147.
202. Zhou, X. Molecular characterization and expression profiles in response to bacterial infection of Chinese soft-shelled turtle interleukin-8 (IL-8), the first reptilian chemokine gene / X. Zhou, Q. Guo, H. Dai // Dev. Comp. Immunol. – 2009. – V. 33. – P. 838–847.
203. Zimmerman, L.M. Phagocytic B cells in a reptile / L.M. Zimmerman, L.A. Vogel, K.A. Edwards, R.M. Bowden // Biol. Lett. – 2009. – V. 6. – P. 270–273.
204. Zimmerman, L.M. Understanding the vertebrate immune system: insights from the reptilian perspective / L.M. Zimmerman, L.A. Vogel, R.M. Bowden // J. Experimental Biology. – 2010. – V. 213. – P. 661–671.