

Оригинальная статья

УДК 598.132.4:591.111.1

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-3-336-349>

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ *ELAPHE DIONE*, *NATRIX NATRIX* И *NATRIX TESSELLATA* (REPTILIA: COLUBRIDAE)

Е. Б. Романова ^{1✉}, Е. И. Соломайкин ¹, А. Г. Бакиев ²,
Р. А. Горелов ², А. А. Клёнина ²

¹ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского

Россия, 603950, г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, д. 23

² Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН
Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10

Поступила в редакцию 21.01.2022 г., после доработки 12.03.2022 г., принята 14.03.2022 г.

Аннотация. Приводится сравнительная межвидовая оценка лейкоцитарного профиля сеголетков *Elaphe dione*, *Natrix natrix* и *N. tessellata*. Молодь получена в условиях неволи от самок, отловленных беременными из поволжских популяций. 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 составляющей 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 среднего стресса, оцениваемого по интегральному лейкоцитарному показателю – индексу соотношения гетерофилов и лимфоцитов. Интегральные лейкоцитарные индексы отражали несбалансированность адаптивного ответа си-

✉ Для корреспонденции. Институт биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского.

ORCID и e-mail адреса: Романова Елена Борисовна: <https://orcid.org/0000-0002-1925-7864>, romanova@ibbm.unn.ru; Соломайкин Евгений Игоревич: <https://orcid.org/0000-0003-4030-8272>, e7v4gen5iy@yandex.ru; Бакиев Андрей Геннадьевич: <https://orcid.org/0000-0002-0338-2740>, herpetology@list.ru; Горелов Роман Андреевич: <https://orcid.org/0000-0002-0207-2951>, gorelov.roman@mail.ru; Клёнина Анастасия Александровна: <https://orcid.org/0000-0002-8997-3866>, colubrida@yandex.ru.

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ

стемы крови у сеголетков, содержащихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

Ключевые слова: *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, лейкоцитарная формула, лейкоцитарные индексы, иммунный статус

Для цитирования. Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А., Клёни-на А. А. Адаптивные реакции системы крови *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata* (Reptilia: Colubridae) // Поволжский экологический журнал. 2022. № 3. С. 336 – 349. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-3-336-349>

ВВЕДЕНИЕ

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.

Начатые нами исследования лейкоцитарного состава крови этих неядовитых змей базируются на данных, полученных на половозрелых особях из природы (Романова и др., 2015, 2017, 2018, 2021a, б). До настоящего времени отсутствуют работы, основанные на аутоэкологическом анализе системы крови особей, содержащихся в условиях неволи, и нет сведений о лейкоцитарном профиле крови молодёжи названных видов.

Задачей настоящей статьи являлась оценка лейкоцитарного профиля сеголетков узорчатого полоза, обыкновенного и водяного ужей, родившихся в неволе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

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 молодёжь: 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.

Все работы проводили в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (International Guiding..., 2012). Самок и их потомство выпустили в места отлова самок.

Мазки крови (по два от каждой особи) готовили с помощью гематологического штапеля, высушивали на воздухе, затем фиксировали в спирто-эфирной смеси (1:1). Зафиксированные мазки до окрашивания хранили при комнатной температу-

ре. Затем окрашивали по Романовскому – Гимзе и просматривали на микроскопе Meiji Techno серии МТ 4000 с иммерсией (Meiji Techno, Japan), при увеличении $\times 1500$, с дифференцированным подсчётом лейкоцитов (Alleman et al., 1992; Соколина и др., 1997; Павлов, 2019). С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, эозинофилы, базофилы) и агранулоциты, или мононуклеарные клетки (азурофилы, моноциты, лимфоциты).

На основании лейкоцитарной формулы крови рассчитали интегральные лейкоцитарные индексы в относительных единицах:

сдвига лейкоцитов, ИСЛ = $\sum$ гранулоцитов / $\sum$ агранулоцитов;

соотношения лимфоцитов и эозинофилов, ИСЛЭ = $L / \mathcal{E}$;

соотношения гетерофилов и эозинофилов, ИСГЭ = $G / \mathcal{E}$;

лимфоцитарно-гранулоцитарный, ИЛГ = $L \times 10 / \mathcal{E} + G + B$;

соотношения гетерофилов и лимфоцитов, ИСГЛ = G / L ,

где L – лимфоциты, $\mathcal{E}$ – эозинофилы, G – гетерофилы, B – базофилы.

Анализ данных проводили методами непараметрической статистики в пакете прикладных программ Statistica и среде RStudio с расчетом критериев: медианного (χ^2), Краскела – Уоллиса (H) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку), в том числе с поправкой Бонферрони; Данна (Z) (при попарном сравнении групп); Манна – Уитни (u) при сравнении двух групп. Классификацию исследованных выборок проводили методом главных компонент. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$. С учетом вида распределения (не соответствующего закону нормального распределения Гаусса) центральные тенденции и рассеяние показателей лейкограммы описывали медианой (Me) и интерквартильным размахом (IQR).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У сеголетков трех видов ужовых змей вклад отдельных лейкоцитарных клеток в общий лейкоцитарный профиль крови различен. Медианы с интерквартильными размахами лейкоцитарной формулы и индексов представлены в табл. 1, результаты их сравнения – в табл. 2. Прокомментируем данные, представленные в таблицах.

Таблица 1. Лейкоцитарный профиль крови сеголетков змей

Table 1. Leukocyte profile of the blood of young snakes

Показатель лейкограммы / Leukogram indicator	<i>Elaphe dione</i> , $n = 47$		<i>Natrix natrix</i> , $n = 7$		<i>Natrix tessellate</i> , $n = 90$	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>
1	2	3	4	5	6	7
Лейкоцитарная формула крови, % / Leukocyte blood formula, %						
Гетерофилы / Heterophils	10.00	4.00	11.00	2.50	7.00	4.00
Эозинофилы / Eosinophils	18.50	3.00	8.00	2.00	8.50	5.00
Базофилы / Basophils	14.00	3.00	7.00	2.00	9.00	4.00
Азурофилы / Azurophiles	5.00	2.00	5.00	2.50	9.50	4.00

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ

Окончание табл. 1
Table 1. Continuation

1	2	3	4	5	6	7
Моноциты / Monocytes	13.00	5.00	9.00	2.50	13.00	4.00
Лимфоциты / Lymphocytes	40.00	5.00	60.00	2.50	52.00	6.00
Лейкоцитарные индексы, отн. ед. / Leukocyte indices, arb. un.						
ИСЛ / Leukocyte shift index	0.75	0.15	0.37	0.02	0.33	0.09
ИСЛЭ / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	2.10	0.46	7.38	1.56	6.24	4.34
ИСГЭ / Index of the heterophils and eosinophils ratio	0.57	0.28	1.22	0.44	0.86	0.85
ИЛГ / Lymphocyte – granulocyte index	9.30	1.39	22.22	1.47	20.19	5.08
ИСГЛ / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	0.25	0.13	0.17	0.05	0.13	0.08

Примечание. *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах.

Note. *Me* – median, *IQR* – interquartile range.

Относительно низкое содержание гетерофилов отмечено у водяного ужа, доли гетерофилов в крови узорчатого полоза и обыкновенного ужа статистически значимо не различались. Процентное содержание эозинофилов и базофилов в крови узорчатого полоза значимо выше по сравнению с аналогичными показателями ужей водяного и обыкновенного. Одинаковое содержание азурофилов у полоза и обыкновенного ужа статистически значимо ниже, чем у водяного ужа. Одинаковое содержание моноцитов у полоза и водяного ужа значимо выше, чем у обыкновенного ужа. Доли лимфоцитов (наибольшая у обыкновенного ужа, наименьшая у полоза) у всех трех видов между собой статистически различны (см. табл. 2).

Таблица 2. Сравнительный межвидовой анализ лейкоцитарного профиля крови сеголетков змей

Table 2. Comparative analysis of the leukocyte profile of the blood of young snakes

Показатель / Leukogram indicator	$H; p$	$\chi^2; p$	<i>Elaphe dione</i> (ED)	<i>Natrix natrix</i> (NN)	<i>Natrix tessellata</i> (NT)
			Статистические показатели (Z; p) / Statistical indicators (Z; p)		
1	2	3	4		
Лейкоцитарная формула крови // Leukocyte blood formula					
Гетерофилы / Heterophils	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 / Eosinophils	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 / Basophils	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 / Azurophils	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 / Monocytes	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 / Lymphocytes	71.26; <0.001	39.99; <0.001	$Z_{ED-NN} = 6.09, p < 0.001; Z_{ED-NT} = 7.32, p < 0.001; Z_{NN-NT} = 2.97, p = 0.009$		

Окончание табл. 2
Table 2. Continuation

1	2	3	4
Лейкоцитарные индексы / Leukocyte indices			
ИСЛ / Leukocyte shift index	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 / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	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 / Index of the heterophils and eosinophils ratio	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 / Lymphocyte-granulocyte index	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 / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	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.

Note. H – Kruskal–Wallis test, χ^2 – median criterion; Z – Dunn criterion, p – significance level. Statistically significant differences are shown in bold.

Не выявлено статистически значимых различий между ужами обыкновенным и водяным по всем пяти рассмотренным интегральным лейкоцитарным индексам крови (ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ, ИСГЛ), что свидетельствует о сходной динамике иммунного ответа и адаптивной реакции обоих видов в условиях серпентария. Уместно упомянуть не только экологическую, но и генетическую близость этих гидрофильных змей: они даже иногда гибридизируют в природе (Asztalos et al., 2021).

Отличная от обыкновенного и водяного ужей картина наблюдалась при рассмотрении интегральных лейкоцитарных показателей крови ксерофитного вида – узорчатого полоза. Повышенное значение ИСЛ у сеголетков 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; Munoz, De la Fuente, 2001; Keller et al., 2006; Zimmerman et al., 2010). Следовательно, у сеголетков узорчатого полоза наблюдалась более поздняя активация эффекторного звена иммунного ответа (лимфоцитов) по сравнению с сеголетками обыкновенного и водяного ужей. При снижении специфической реакции иммунной системы в организме полозов наблюдалась компенсаторная активация неспецифической защитной системы крови (содержание гранулоцитов), что обеспечивало функционирование организма в условиях серпентария. О повышении функциональной активности гранулоцитарных клеток позволяют говорить пониженные значения индексов ИСЛЭ и ИСГЭ в лейкоцитарном профиле узорчатого полоза. Индекс ИЛГ – показатель сбалансированности ответной реакции клеток крови на активный воспалительный процесс. Понижение этого показателя (на фоне повышения индекса ИСГЛ) свидетельствовало о незавершенности иммунного ответа и развитии стресс-реакций в организме узорчатого полоза.

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ

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 к быстрому, своевременному и сбалансированному иммунному ответу на стрессовый фактор.

Сравнительный анализ лейкоцитарных профилей крови взрослых особей узорчатого полоза из естественных условий (Романова и др., 2018) и молодых особей этого вида, родившихся в неволе, выявил значимые различия по всем изученным показателям, иллюстрирующие перестройку баланса лейкоцитарных клеток и отражающие пластичность компенсаторных возможностей иммунной системы змей (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля крови сеголетков змей, родившихся в неволе от самок из Волжского бассейна, и взрослых особей *Elaphe diene* из природы в Уральском бассейне

Table. 3. Comparative analysis of blood leukocytes of young snakes born in captivity from females (Volga River basin) and of adult *Elaphe diene* individuals from natural population (Ural Basin)

Показатель / Leukogram indicator	$H; p$	$\chi^2; p$	1. Самки / Females	2. Самцы / Males	3. Сеголетки / Young
			$Z; p$		
Лейкоцитарная формула крови / Leukocyte blood formula					
Гетерофилы / Heterophils	9.50, $p = 0.008$	7.18, $p = 0.02$	$Z_{2,3}=3.06, p = 0.006$		
Эозинофилы / Eosinophils	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 / Basophils	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 / Azurophiles	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 / Monocytes	29.17, $p < 0.001$	16.66, $p = 0.003$	$Z_{2,3} = 5.20, p = 0.000001$		
Лимфоциты / Lymphocytes	37.65, $p < 0.001$	27.48, $p < 0.001$	$Z_{1,3} = 4.69, p = 0.00008; Z_{2,3}=4.67, p = 0.000009$		
Лейкоцитарные индексы / Leukocyte indices					
ИСЛ / Leukocyte shift index	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 / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	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 / Index of the heterophils and eosinophils ratio	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 / Lymphocyte-granulocyte index	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 / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	18.03, $p = 0.0001$	15.56, $p = 0.0004$	$Z_{2,3} = 3.88, p = 0.0003$		

Примечание. H – критерий Краскела – Уоллиса; χ^2 – медианный критерий; Z – критерий Данна; p – уровень значимости. В таблице приведены статистически значимые различия в показателях крови сеголетков и гендерных групп взрослых особей.

Note. H – Kruskal–Wallis test, χ^2 – median criterion; Z – Dunn criterion, p – significance level. The table shows statistically significant differences in blood parameters of young and gender groups of adults.

Анализ полученных данных позволяет прийти к заключению о перестройке баланса лейкоцитарных клеток в организме сеголетков полоза в пользу активации пула гранулоцитарных клеток, доля которых значимо выше по сравнению с показателями взрослых самок и самцов. Более ощутимый вклад в увеличение суммарного показателя вносили эозинофилы и базофилы (рис. 1).

Количественные изменения в лейкоцитарных показателях крови молодых и взрослых особей узорчатого полоза 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.

Сравнительный анализ лейкоцитарных профилей крови взрослых особей ужа обыкновенного *N. natrix*, обитающих в естественных условиях Северного Прикаспия, и сеголеток не выявил количественных различий по содержанию гранулоцитов и агранулоцитов. При этом сеголетки характеризовались долевым превышением гетерофилов (по сравнению с взрослыми самками и самцами), моноцитов (с самцами), а также пониженным содержанием базофилов (по сравнению с самками и самцами) и азурофилов (с самками). Такая перестройка баланса лейкоцитарных клеток проявлялась повышением значения лейкоцитарных индексов (ИСГЭ и ИСГЛ), что иллюстрировало преобладающую роль гетерофилов при реализации адаптивных неспецифических антистрессовых реакций крови неполовозрелых особей в условиях серпентария.

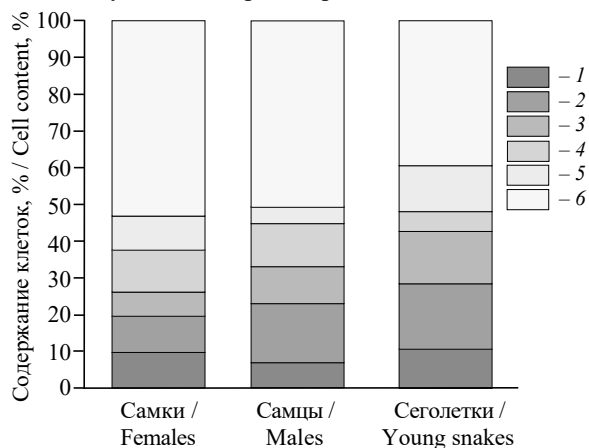


Рис. 1. Перестройка баланса лейкоцитарных клеток в периферической крови сеголетков и взрослых особей *Elaphe diene*: 1 – гетерофилы, 2 – эозинофилы, 3 – базофилы, 4 – азурофилы, 5 – моноциты, 6 – лимфоциты

Fig. 1. Rearrangement of the balance of leukocyte cells in the peripheral blood of *Elaphe diene* young and adult individuals: 1 – heterophils, 2 – eosinophils, 3 – basophils, 4 – azurophils, 5 – monocytes, 6 – lymphocytes

Аналогичные тенденции в отклонениях лейкоцитарного профиля крови сеголетков от показателей взрослых особей, обитающих в естественных условиях Северного Прикаспия (Романова и др., 2021б), выявлены для водяного ужа. На фоне одинакового (со взрослыми особями) соотношения в крови гранулоцитов и агранулоцитов сеголетки отличались 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).

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ

Повышенное значение лейкоцитарного индекса стресса (ИСГЛ) у сеголетков по сравнению со взрослыми являлось сигналом раннего предупреждения о потенциальных проблемах в выборке водяного ужа из серпентария. Понижение значения лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ) можно рассматривать как показатель несбалансированности адаптивной реакции клеток крови с намечающейся тенденцией 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 адаптивных ответах на комплекс факторов среды обитания.

Таким образом, лейкоцитарные формулы крови трех видов неядовитых уховых 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 сеголетков выявлено увеличение содержания гетерофилов, моноцитов и снижение числа лимфоцитов (табл. 4).

Таблица 4. Направленность отклонений лейкоцитарных показателей крови сеголетков змей по сравнению со взрослыми особями

Table. 4. Direction of the deviations of leukocyte blood parameters of young snakes compared with adult individuals

Показатель лейкограммы / Leukogram indicators	<i>Elaphe dione</i>		<i>Natrix natrix</i>		<i>Natrix tessellata</i>	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
Лейкоцитарная формула крови / Leukocyte blood formula						
Гетерофилы / Heterophils	–	↑	↑	↑	↑	↑
Эозинофилы / Eosinophils	↑	–	–	–	↑	–
Базофилы / Basophils	↑	↑	↓	↓	–	↓
Азурофилы / Azurophils	↓	–	↓	–	–	↓
Моноциты / Monocytes	–	↑	–	↑	↑	↑
Лимфоциты / Lymphocytes	↓	↓	–	–	↓	↓
Лейкоцитарные индексы / Leukocyte indices						
ИСЛ / Leukocyte shift index	↑	↑	–	–	–	–
ИСЛЭ / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	↓	–	–	–	–	–
ИСГЭ / Index of the heterophils and eosinophils ratio	↓	↑	↑	↑	↑	–
ИЛГ / Lymphocyte–granulocyte index	↓	↓	–	–	–	↓
ИСГЛ / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	–	↑	↑	↑	↑	↑

Примечание. Прочерк – отсутствие значимых различий, ↑ – статистически значимое повышение показателя, ↓ – статистически значимое снижение показателя.

Note. Dash – no significant differences, ↑ – a statistically significant increase in the indicator, ↓ – a statistically significant decrease in the indicator.

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 «азуروفилы» и «лимфоциты», доля которых была выше в крови самок и самцов по сравнению с сеголетками.

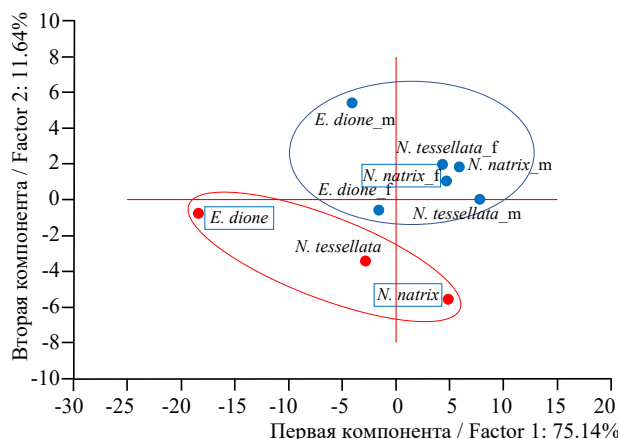


Рис. 2. График рассеяния выборок сеголетков и взрослых *Elaphe dione*, *Natrix natrix* и *N. tessellata* в пространстве двух первых главных компонент: m – самцы, f – самки, ● – сеголетки, ● – взрослые особи

Fig. 2. Graph of the scattering samples of young and adult individuals of *Elaphe dione*, *Natrix natrix* and *N. tessellata* in the space of the first two main components: m – males, f – females, ● – young snakes, ● – adults snakes

сравнению с сеголетками. Расположение сеголетков трех видов неядовитых уховых змей в третьем и четвертом квадрантах факторного пространства, обусловлено однонаправленными сдвигами в лейкоцитарной формуле крови, а именно, повышением доли гетерофилов и моноцитов (рис. 2).

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реакция иммунологической системы – это интегральный показатель действия множества механизмов. Экологические факторы разной степени интенсивности нарушают 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, 2019). Стресс как неспецифическая адаптивная многостадийная реакция развивается на сильные, неблагоприятные раздражители (Селье, 1979; Гаркави и др., 1998; Барабой, 2006). Раздражители средней силы вызывают развитие общей неспецифической реакции активации (Гаркави, Квакина, 1990; Гаркави и др., 1998), которая характеризуется быстрым подъемом активности защитных и регуляторных систем организма и выполняет антистрессовую функцию. Сложные иммунные и метаболические реакции, характеризующие каждую из адаптивных реакций, находят определенное отражение в морфологическом составе лейкоцитарной формулы крови.

Повышенное содержание в крови сеголетков уховых змей гранулоцитов являлось характерным показателем возрастания средового стресса, оцениваемого по интегральному лейкоцитарному индексу ИСГЛ. При этом соотношение форменных элементов крови сеголетков смещалось в сторону гранулоцитарной составляющей, реализующей сильные неспецифические (врожденные) иммунные ответы. Интегральные лейкоцитарные индексы отражали несбалансированность адаптивного ответа системы крови у сеголетков, содержащихся в неволе, по отношению к взрослым самцам и самкам из природных популяций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ананьева Н. Б., Орлов Н. Л., Халиков Р. Г., Даревский И. С., Рябов С. А., Барабанов А. В. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус). СПб. : ЗИН РАН, 2004. 232 с.

Барабой В. А. Стресс : природа, биологическая роль, механизмы, исходы. Киев : Фитосоциоцентр, 2006. 424 с.

Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б. О принципе периодичности в развитии адаптационных реакций и ареактивности // Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов н/Д : Изд-во Ростовского университета, 1990. С. 64 – 100.

Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Кузьменко Т. С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. М. : ИМЕДИС, 1998. 656 с.

Земсков А. М., Земсков В. М., Хаитов Р. М., Золоедов В. И. Иммунная реактивность и факторы внешней среды // Физиология человека. 1997. Т. 23, № 6. С. 98 – 105.

Кудрявцев С. В., Мамет С. В., Журавлев Ю. Д. Террариум: вчера, сегодня, завтра. Руководство для террариумистов. М. : Фитон XXI, 2019. 421 с.

Павлов А. В. Ключевые моменты гематологии рептилий: особенности оценки лейкоцитарной части крови // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 1 (25). С. 138 – 152. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-1-14>

- Петров Р. В. Иммунология М. : Мир, 1990. 384 с.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Бакиев А. Г., Клёнина А. А. Особенности лейкоцитарного состава крови самок обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) (Reptilia: Colubridae) Самарской области // Современная герпетология. 2015. Т. 15, вып. 1/2. С. 69 – 76.
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А., Клёнина А. А. Иммуногематологические показатели ядовитых и неядовитых змей на территориях Волжского бассейна с разной антропогенной трансформацией // Известия Самарского научного центра РАН. 2017. Т. 19, № 2. С. 54 – 61.
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. Лейкоцитарный состав крови *Elaphe dione* (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский» (Россия) // Заповедная наука. 2018. Т. 3, спец. вып. 1. С. 28 – 35. <https://doi.org/10.24189/ncr.2018.033>
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) Мордовского государственного заповедника (Россия) // Современная герпетология. 2021 а. Т. 21, вып. 1/2. С. 18 – 29. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А., Клёнина А. А. Показатели лейкоцитарной системы крови ужа водяного *Natrix tessellata* Северного и Восточного Прикаспия // Принципы экологии. 2021б. № 1. С. 52 – 62. <https://doi.org/10.15393/j1/art/2021.11102>
- Селье Г. Стресс без дистресса. М. : Прогресс, 1979. 123 с.
- Соколова Ф. М., Павлов А. В., Юсупов Р. Х. Гематология пресмыкающихся : методическое пособие по курсу герпетология, большому практикуму и спецсеминарам. Казань : Казанский государственный университет, 1997. 31 с.
- Хаитов Р. М. Иммунология : структура и функции иммунной системы. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2019. 328 с.
- Alleman A. R., Jacobson E. R., Raskin R. E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) // American Journal of Veterinary Research. 1992. Vol. 53, iss. 9. P. 1645 – 1651.
- Aszталos M., Ayaz D., Bayrakci Y., Afsar M., Tok C. V., Kindler C., Jablonski D., Fritz U. It takes two to tango – Phylogeography, taxonomy and hybridization in grass snakes and dice snakes (Serpentes: Natricidae: *Natrix natrix*, *N. tessellata*) // Vertebrate Zoology. 2021. Vol. 71. P. 813 – 834. <https://doi.org/10.3897/vz.71.e76453>
- International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Geneva, Switzerland : Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.
- Keller J. M., McClellan-Green P. D., Kucklick J. R., Keil D. E., Peden-Adams M. M. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity : comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments // Environmental Health Perspectives. 2006. Vol. 114. P. 70 – 76. <https://doi.org/10.1289/ehp.8143>
- Montali R. J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) // Journal of Comparative Pathology. 1988. Vol. 99. P. 1 – 26.
- Munoz F. J., De la Fuente M. The effect of the seasonal cycle on the splenic leukocyte functions in the turtle *Mauremys caspica* // Physiological and Biochemical Zoology. 2001. Vol. 74, № 5. P. 660 – 667. <https://doi.org/10.1086/323033>
- Sindaco R., Venchi A., Grieco C. The Reptiles of the Western Palearctic. 2. Annotated Checklist and Distributional Atlas of the Snakes of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia. Latina : Edizioni Belvedere, 2013. 544 p.
- Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. Understanding the vertebrate immune system : Insights from the reptilian perspective // Journal of Experimental Biology. 2010. Vol. 213, iss. 5. P. 661 – 671. <https://doi.org/10.1242/jeb.038315>

Adaptive reactions of the blood system of *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, and *N. tessellata* (Reptilia: Colubridae)

E. B. Romanova ^{1✉}, E. I. Solomaykin ¹, A. G. Bakiev ²,
R. A. Gorelov ², A. A. Klenina ²

¹ Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod
23 Gagarin Avenue, Nizhni Novgorod 603950, Russia

² Samara Federal Research Center of RAS,
Institute of Ecology of the Volga River Basin of Russian Academy of Sciences
10 Komzina St., Togliatti 445003, Russia

Received: 21 January 2022 / revised: 12 March 2022 / accepted: 14 March 2022

Abstract. A comparative interspecific assessment of the leukocyte profile of young *Elaphe dione*, *Natrix natrix* and *N. tessellata* is given. Juvenile snakes were obtained in captivity from females captured, being pregnant, from Volga populations. Eosinophils and basophils predominated in the blood of young *E. dione*, the total content of mononuclear cells (agranulocytes) was lower compared to the young of *N. tessellata* and *N. natrix*. At the same time, the species of the genus *Natrix* differed in the content of all three types of mononuclear cells, namely: the proportion of azurophils and monocytes was higher in *N. tessellata*, and that of lymphocytes was higher in *N. natrix*. The main contribution to the balance of mononuclear cells was made by lymphocytes. The leukocyte composition of young snakes had no pronounced lymphocytic profile, the contribution of the specific reactivity of the organism to the overall adaptive response of the body of young snakes to environmental conditions was small. According to the content of lymphocytes, the studied species were arranged in descending order in the following row: *N. natrix* ($Me = 60.00$, $IQR = 2.50$) → *N. tessellata* (52.00 , 6.00) → *E. dione* (40.00 , 5.00). The increased value of the leukocyte shift index in *E. dione* young testified to the predominant role of granulocytes in the immune response with some lag of lymphocyte-monocyte cells and later activation of the effector link of the immune response (lymphocytes) compared with young of *N. natrix* and *N. tessellata*. While the specific reaction of the immune system decreased, a compensator activation of the nonspecific protective blood system was observed in the organism of *E. dione*. The increase in the content of granulocytes in the blood of young snakes was a characteristic indicator of an increase in environmental stress, assessed by the integral leukocyte index (the ratio of heterophiles and lymphocytes). Integral leukocyte indices reflected an imbalance of the adaptive response of the blood system in young snakes kept in captivity in relation to adult males and females from natural populations.

Keywords: *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, WBC (white blood cells), leukocytes indexes, immune status

For citation: Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A., Klenina A. A. Adaptive reactions of the blood system of *Elaphe dione*, *Natrix natrix*, and *N. tessellata* (Reptilia: Colubridae). *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2022, no. 3, pp. 336–349 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-3-336-349>

✉ Corresponding author. Department of Ecology of Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Elena B. Romanova: <https://orcid.org/0000-0002-1925-7864>, romanova@ibbm.unn.ru; Evgeny I. Solomaykin: <https://orcid.org/0000-0003-4030-8272>, e7v4gen5iy@yandex.ru; Andrey G. Bakiev: <https://orcid.org/0000-0002-0338-2740>, herpetology@list.ru; Roman A. Gorelov: <https://orcid.org/0000-0002-0207-2951>, gorelov.roman@mail.ru; Anastasia A. Klenina: <https://orcid.org/0000-0002-8997-3866>, colubrida@yandex.ru.

REFERENCES

- Ananjeva N. B., Orlov N. L., Khalikov R. G., Darevsky I. S., Ryabov S. A., Barabanov A. V. *Colored Atlas of the Reptiles of the North Eurasia (Taxonomic Diversity, Distribution, Conservation Status)*. Saint Petersburg, Zoological Institute of RAS Publ., 2004. 232 p. (in Russian).
- Baraboy V. A. *Stress: priroda, biologicheskaya rol', mekhanizmy, iskhody* [Stress: Nature, Biological Role, Mechanisms, Outcomes]. Kiev, Phytosociocenter Publ., 2006. 424 p. (in Russian).
- Garkavi L. H., Kvakina E. B. On the principle of periodicity in the development of adaptive reactions and areactivity. In: *Adaptatsionnye reakcii i rezistentnost' organizma* [Adaptive Reactions and Resistance of the Body]. Rostov-na-Donu, Izdatel'stvo Rostovskogo universiteta, 1990, pp. 64–100 (in Russian).
- Garkavi L. H., Kvakina E. B., Kuz'menko T. S. *Antistressornye reakcii i aktivatsionnaya terapiya. Reakciya aktivatsii kak put' k zdorov'yu cherez processy samoorganizatsii* [Antistress Reactions and Activation Therapy. Activation Reaction as a Path to Health Through Self-organization Processes]. Moscow, IMEDIS Publ., 1998. 656 p. (in Russian).
- Zemskov A. M., Zemskov V. M., Khaitov R. M., Zolodov V. I. Immune reactivity and environmental factors. *Fiziologiya cheloveka*, 1997, vol. 23, no. 6, pp. 98–105 (in Russian).
- Kudryavtsev S. V., Mamet S. V., Zhuravlyov Yu. D. *Terrarium: vchera, segodnia, zavtra. Rukovodstvo dlia terrariumistov* [Terrarium: Yesterday, Today, Tomorrow. Manual for Terrarium Holders]. Moscow, Fiton XXI Publ., 2019. 421 p. (in Russian).
- Pavlov A. V. Key moments of reptile hematology: features of the assessment of the leukocyte part of blood. *Proceedings. Volga Region. Natural Sciences*, 2019, no. 1 (25), pp. 138–152 (in Russian). <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-1-14>
- Petrov R. V. *Immunologiya* [Immunology]. Moscow, Mir Publ., 1990. 384 p. (in Russian).
- Romanova E. B., Nikolaev V. Yu., Bakiev A. G., Klenina A. A. Features of the leukocyte composition of blood of females of common snake (*Natrix natrix*) and water snake (*N. tessellata*) (Reptilia: Colubridae) of the Samara region. *Current Studies in Herpetology*, vol. 15, iss. 1–2, pp. 69–76 (in Russian).
- Romanova E. B., Solomaikin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A., Klenina A. A. Immunohematological indicators of poisonous and non-toxic snakes in the Volga basin with different anthropogenic transformations. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2017, vol. 19, no. 2, pp. 54–61 (in Russian).
- Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A. The leukocyte blood composition of *Elaphe dione* (Serpentes: Colubridae) in Orenburg State Nature Reserve (Russia). *Nature Conservation Research*, 2018, vol. 3, suppl. 1, pp. 28–35 (in Russian). <https://doi.org/10.24189/ncr.2018.033>
- Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A. Leukocyte blood composition of *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) in the Mordovian State Nature Reserve (Russia). *Current Studies in Herpetology*, 2021 a, vol. 21, iss. 1–2, pp. 18–29 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>
- Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A., Klenina A. A. Indicators of the leukocyte system of the blood of the tessellated water snake *Natrix tessellata* of the Northern and Eastern Pre-Caspia. *Principy ekologii*, 2021 b, no. 1, pp. 52–62 (in Russian). <https://doi.org/10.15393/j1.art.2021.11102>
- Selye G. *Stress Without Distress*. Moscow, Progress Publ., 1979. 123 p. (in Russian).
- Sokolina F. M., Pavlov A. V., Yusupov R. *Gematologiya presmykaiushchikhsia. Metodicheskoe posobie k kursu gerpetologii, bol'shomu praktikumu i seminaram* [Reptile Hematology: The Guidance Manual for Herpetology Course, Long-Term Practical Work, and Seminars]. Kazan, Kazanskii universitet Publ., 1997. 31 p. (in Russian).

Khaitov R. M. *Immunologija: struktura i funkcii immunnnoj sistemy* [Immunology: Structure and Functions of the Immune System]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2019. 328 p. (in Russian).

Alleman A. R., Jacobson E. R., Raskin R. E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *American Journal of Veterinary Research*, 1992, vol. 53, iss. 9, pp. 1645–1651.

Asztalos M., Ayaz D., Bayrakçı Y., Afsar M., Tok C. V., Kindler C., Jablonski D., Fritz U. It takes two to tango – Phylogeography, taxonomy and hybridization in grass snakes and dice snakes (Serpentes: Natricidae: *Natrix natrix*, *N. tessellata*). *Vertebrate Zoology*, 2021, vol. 71, pp. 813–834. <https://doi.org/10.3897/vz.71.e76453>

International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Geneva, Switzerland, Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.

Keller J. M., McClellan-Green P. D., Kucklick J. R., Keil D. E., Peden-Adams M. M. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments. *Environmental Health Perspectives*, 2006, vol. 114, pp. 70–76. <https://doi.org/10.1289/ehp.8143>

Montali R. J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals). *Journal of Comparative Pathology*, 1988, vol. 99, pp. 1–26.

Munoz F. J., De la Fuente M. The effect of the seasonal cycle on the splenic leukocyte functions in the turtle *Mauremys capsica*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2001, vol. 74, no. 5, pp. 660–667. <https://doi.org/10.1086/323033>

Sindaco R., Venchi A., Grieco C. *The Reptiles of the Western Palearctic. 2. Annotated Checklist and Distributional Atlas of the Snakes of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia*. Latina, Edizioni Belvedere, 2013. 544 p.

Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. Understanding the vertebrate immune system: Insights from the reptilian perspective. *Journal of Experimental Biology*, 2010, vol. 213, iss. 5, pp. 661–671. <https://doi.org/10.1242/jeb.038315>