УДК 598.1+591.111.1

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ РЕПТИЛИЙ

ЛИСНИЧАЯ Е.Н., студентка ЕФИМОВ В.Г., к. вет. наук, доцент Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет г. Днепропетровск <u>plppm@ua.fm</u>

Проанализированы результаты исследований гематологических показателей крови пресмыкающихся. Обобщены имеющиеся в литературе сведения об особенностях гемопоэза, а также морфологии клеточных элементов крови различных представителей данного класса животных; рассмотрены наиболее распространенные методы определения количественного состава крови рептилий

Рептилии, клетки крови, морфология, методы исследования

В последнее время значительно возросло количество экзотических домашних животных, в частности, рептилий. Этот класс животных имеет ряд биологических особенностей, что может создавать ряд проблем для специалистов ветеринарной медицины в процессе диагностики заболеваний различного генеза. К одной из таких проблем следует отнести проведение лабораторных исследований, которые затрудняются двумя основными факторами:

- отсутствием в отечественной литературе норм гематологических и биохимических по-казателей:
- характерными особенностями клеток крови, что делает затруднительным их подсчет и дифференциацию.

Исходя из этого, **целью** нашей публикации было обобщение имеющихся в литературе данных касательно методических подходов к исследованию морфологического состава крови рептилий, имеющихся референтных величин и диагностического значения отдельных показателей.

1. Особенности морфологического состава крови рептилий. На современном этапе развития ветеринарной герпетологии и гематологии рептилий сложилось достаточно стойкое представление о том, где синтезируются клеткипредшественники зрелых клеток крови и как происходит их дальнейшая пролиферация. Работы Li P.P., Lu Y.Y. [по 36] свидетельствуют о том, что в пренатальном онтогенезе первым органом гемопоэза являются кроветворные островки желточного мешка. В дальнейшем способность синтезировать клетки крови обре-

тают тимус плода, печень, селезенка, красный костный мозг. В постнатальном онтогенезе основной кроветворный орган у рептилий — красный костный мозг, однако селезенка также принимает активное участие в эритропоэзе и образовании мононуклеарных лейкоцитов, в то время как активность почек и печени в процессах синтеза эритроцитов не отмечается.

Li P.P. et al., Jiang J.P. et al. [по 36] рассматривают развитие клеток крови в три стадии:

- первоначальная стадия (предшественники эритроцитов и лейкоцитов пронормобласты и промиелобласты соответственно);
- стадия незрелых клеток (нормобласты и миелоциты различной степени зрелости);
 - стадия зрелых клеток.

Также описана способность эритроцитов рептилий к делению в периферической крови, что подтверждается картинами их митотической активности в мазках крови (рис. 1, 2) [36]

Клеточный состав крови рептилий, как и высших позвоночных, представлен тремя рядами клеток: эритроцитарным, тромбоцитарным и лейкоцитарным. При дальнейшей дифференциации клеток крови рептилий заметна существенная разница в их морфологических особенностях в сравнении с клетками крови других классов животных. На данный момент мнения различных авторов [1, 8, 20, 21, 34] сошлись в том, что клеточный состав периферической крови рептилий представлен нижеперечисленными разновидностями клеток.

<u>Эритроцитарный ряд:</u> зрелые эритроциты, нормобласты в процессе пролиферации или митоза, а также специфические клетки данного



Рис. 1. Деление эритроцитов в периферической крови (Golden spitting cobra, окраска Wright-Giemsa) [30]

ряда – випроциты. Большинство источников, указывающих на морфологические особенности випроцитов и их наличие в крови различных видов рептилий, принадлежит российским ученым. Впервые данные клетки были описаны в крови ядовитых и неядовитых змей А.А. Переваловым [по 6]. В дальнейшем, на наличие випроцитов О.Е. Большаковой, А.Г. Бакиевым была исследована кровь других видов рептилий: Emys orbicularis, Lacerta agilis, Anguis fragilis, Zootoca vivipara, Phrynocephalus mystaceus. В работе Хайрутдинова И.З. и др. [6], посвященной сравнительной морфологии крови прыткой ящерицы Lacerta agilis и обыкновенной гадюки Vipera berus, имеются данные о наличии випроцитов в крови гадюки, в то время как у ящерицы данные форменные элементы не выявлялись. Согласно результатам работ по сравнительной характеристике периферической крови обыкновенного ужа Natrix natrix, обыкновенной гадюки Vipera berus и степной гадюки Vipera renardi, випроциты наблюдаются в крови всех исследованных видов змей [2]. Автор отмечает, что для крови рода Vipera характерно значительное количество этих клеток, встречающихся регулярно и группами. В крови рода Natrix наблюдаются одиночные випроциты в меньшем количестве, чем в крови вышеназванных рептилий. Предполагается, что наличие випроцитов связано с токсичностью слюны некоторых видов животных данного класса [6].

<u>Тромбоцитарный ряд:</u> тромбоциты – клетки, значение которых в крови рептилий соот-

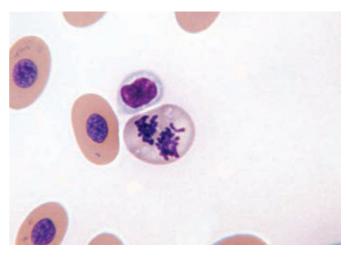


Рис. 2. Митоз в полихроматофильной клетке, выше – тромбоцит (Malacocherus tornieri, окраска Wright-Giemsa) [20]

ветствует основным функциям кровяных пластинок млекопитающих. В отличие от последних, представителями тромбоцитарного ряда крови рептилий являются целостные ядерные клетки.

Лейкоцитарный ряд: гранулоциты (базофилы, эозинофилы, гетерофилы) и мононуклеарные лейкоциты (моноциты, лимфоциты, азурофилы). Гетерофилы или псевдоэозинофилы рептилий гомологичны нейтрофилам млекопитающих, но отличаются некоторыми морфологическими особенностями. Это связано с тинкториальными свойствами гранул клеток, что проявляется неодинаковой реакцией их содержимого на действие красителя и, соответственно, различным цветом гранул клеток в окрашенных мазках крови. В вопросе происхождения азурофилов отмечаются определенные разногласия. В частности, в работах Orós J и др. [27], Campbell T.W. [12], Johnson A. [21] азурофилы представлены как разновидность моноцитов, имеющих меньшие размеры (в сравнении с типичными моноцитами), а также базофильно окрашивающуюся цитоплазму с многочисленными эозинофильными гранулами. При этом авторы ссылаются на результаты исследований, посвященных сравнительной оценке цитохимических и ультраструктурных особенностей азурофилов и моноцитов в крови различных видов рептилий. Согласно полученным ими данным, свойства изучаемых клеток в большинстве случаев совпадают, исключение составляют лишь клетки крови змей, отличающиеся цитохимическими особенностями. Однако, в некоторых работах азурофилы описываются как отдельный вид клеток крови [30]. В более ранних исследованиях клеточного состава крови рептилий авторы придерживаются мнения, что азурофилы относятся к группе гранулоцитов [29].

2. Дифференциация клеток эритроцитарного ряда и методы подсчета эритроцитов. В периферической крови рептилий встречаются клетки эритроцитарного ряда различной степени зрелости, поэтому дифференциация зрелых эритроцитов, нормоцитов, нормобластов и эритробластов с последующим определением их количественного соотношения имеет диагностическое значение. Согласно исследованиям Хайрутдинова И.З. и др. [6], данные клеточные элементы имеют специфические морфологические характеристики, что помогает в процессе их идентификации (на примере клеток крови прыткой ящерицы и обыкновенной гадюки).

Эритробласты – округлые клетки с большим ядром, содержащим ядрышки. Цитоплазма окрашивается базофильно и неравномерно. В сравнении с эритробластами, нормобласты имеют более вытянутую форму и менее выраженную базофилию цитоплазмы.

Полихроматофильные нормоциты — овальные клетки, цвет цитоплазмы которых изменяется по мере накопления гемоглобина от базофильного до розово-оранжевого. Хроматин ядра становится грубее, более конденсированным.

Эритроциты — ядерные, овальные или эллипсоидные клетки, с округлыми концами и четкими границами. Центрально расположенное ядро округлой или овальной формы, с ровными или «изрезанными» краями [21]. В мазках крови, окрашенных по методу Паппенгейма, цитоплазма клеток имеет оранжевый цвет («кирпичный») с различными оттенками желтого или розового. Ядра зрелых клеток окрашиваются в фиолетово-синий цвет и являются более хромофильными, чем ядра нормоцитов [29].

Структурные и функциональные особенности випроцитов в литературе детально не охарактеризованы, а описание морфологии этих клеточных элементов крови весьма отлично в

различных источниках. В то же время, сведения о функциональном значении клеток основываются на предположениях. Так, в работах Большаковой О.Е. и Бакиева А.Г. [по 6] указывается, что ядра випроцитов окрашиваются в розовый цвет, а в исследованиях Хайрутдинова И.З. и др. ядро описывается как базофильно-серое образование. Данные разногласия, вероятно, обусловлены различиями в методах фиксации и окраски мазков крови [6].

С помощью иммерсионного объектива и окуляра-микрометра многими исследователями измерены такие показатели, как длина (Lc) и ширина (Wc) клетки, а также длина (Ln) и ширина (Wn) ядра. По данным величинам были вычислены площадь клетки, площадь ядра и нуклеарно-цитоплазматическое соотношение. Таким образом, были получены данные о размерах эритроцитов у различных видов рептилий. Согласно Wintrobe M.M. (1933), величина красных кровяных клеток отражает положение вида в эволюционной шкале: эритроциты птиц меньше, чем клетки пресмыкающихся, но больше клеток млекопитающих. В классе рептилий подтверждением этому является то, что наибольшие эритроциты выявлены у черепах и крокодилов, а наименьшие - у представителей подряда ящериц [35, 11]. Также наблюдаются половые отличия в размерах клеток: эритроциты самцов несколько меньше клеточных элементов самок [22].

Средние показатели размеров эритроцитов черепах, ящериц и змей представлены в табл.1.

Основные методы подсчета форменных элементов, используемые в гематологии млекопитающих, не могут быть применимы при исследовании крови низших позвоночных по причине наличия в их крови, помимо лейкоцитов, других ядерных клеток (тромбоцитов и эритроцитов). Поэтому в гематологии рептилий используются модифицированные или специализированные методы, которые позволяют проводить анализ крови, учитывая особенности клеточных элементов. Среди методов, которые описываются в зарубежной и отечественной литературе, можно выделить несколько основных, используемых для подсчета эритроцитов:

P	ептилии	По данным	Lc, мкм	Wc, мкм	Sc, mkm ²
Ряд черепахи	вид Testudo graeca	Kassab A. et al. [22]	18,2-19,8	9,1-10,3	130,6-163,0
Подряд яще- рицы	вид Anatolacerta cap- padocica	Arican H. et al. [25]	12,0-15,8	6,5-8,8	70,2-102,0
Подряд змеи	вид Natrix natrix	Arican H. et al. [26]	14,5-19,0	9,3-12,0	111,9-154,0

Таблица 1. Размеры эритроцитов некоторых видов рептилий

- метод подсчета эритроцитов в гемацитометре (счетной камере) с разведением крови раствором Gower, в состав которого входят сульфат натрия и ледяная уксусная кислота [9].
- использование стандартного раствора Наует (содержит хлорид натрия, сульфат натрия и дихлорид ртути) для разведения крови с последующим подсчетом клеток в гемацитометре [18].
- метод подсчета эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в гемацитометре с использованием раствора Natt, Herrick и разведением крови в концентрации 1:200 [16].

В работе Troiano J.C. et al. [15] используется метод с разведением крови раствором, описанным Otis V.C. (1973), который позволяет подсчитывать эритроциты, лейкоциты и тромбоциты в гемацитометре по стандартной методике.

Кровь разводится изотоническим раствором, в состав которого входит 0.25% FeCl₃, 2.5% Na₂SO₄, 0.5% NaCl, растворенные в дистиллированной воде. Подсчет эритроцитов производится в гемацитометре в пяти больших квадратах по диагонали, пересчет количества эритроцитов в 1 мкл крови – с учетом степени разведения крови раствором [14].

Средние показатели количества эритроцитов в крови черепах, зеленой игуаны и ужа обыкновенного представлены в табл. 2.

3. Идентификация тромбоцитов и методы подсчета их количества в крови рептилий. В процессе идентификации тромбоцитов могут возникать некоторые сложности, что связано с подобием морфологических особенностей данных клеток с клетками лейкоцитарного ряда - лимфоцитами. Согласно различным исследованиям [6, 31, 27, 21, 22], встречаформы тромбоцитов: овальнодве эллипсоидная И веретенообразная (бобовидная), но очертания клеток могут изменяться по мере образования псевдоподий (рис. 3). При окраске мазков крови по методу Паппенгейма цитоплазма тромбоцитов бесцветна и может иметь незначительное количество азурофильных гранул. Ядро расположено центрально, окрашивается в сине-фиолетовый цвет с выраженными, конденсированными глыбками хроматина (рис. 3).

Способность тромбоцитов к агрегации приводит к образованию скоплений клеток, что помогает дифференцировать тромбоциты от лимфоцитов (рис. 4).

Также отличительными особенностями являются цвет цитоплазмы (зрелые тромбоциты

Таблица 2. Количество эритроцитов в крови некоторых видов рептилий

Рептили	и	По данным	RBC, Т/л
Ряд черепахи	вид Caretta caretta	Kakizoe Y. et al. [33]	0,325-0,429
Подряд ящерицы	вид Iguana iguana	Васильев Д.Б. [1]	$1,41 \pm 0,59$
Подряд змеи	вид Natrix natrix	Tosunoğlu M. et al. [18]	0,846

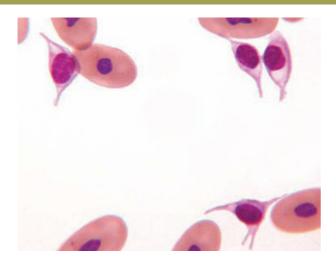


Рис. 3. Тромбоциты с псевдоподиями (Epicrates cenchria crassus, окраска Wright-Giemsa) [20]

имеют бесцветную цитоплазму, а лимфоциты – слегка базофильную, светло-голубую), размер и форма клеток (в большинстве случаев тромбоциты имеют несколько меньшие размеры и более эллипсоидную форму).

Нуклеарно-цитоплазматическое соотношение тромбоцитов составляет в среднем 0,62 [27]. Другие показатели размеров данных клеточных элементов крови черепах, ящериц и змей представлены в табл. 3.

Подсчет количества тромбоцитов может затрудняться вследствие агрегации их активированных форм с образованием кластеров клеток, наличие которых в исследуемом образце крови увеличивает процент погрешности результатов. Поэтому в используемых методах подсчета должна учитываться данная особенность тромбоцитов. В литературе рекомендуется использование таких методов:

Согласно методу Wojtaszek J.S. [по 34], количество тромбоцитов в 1 мкл крови (Т/мкл) определяется путем подсчета в окрашенных мазках количества данных клеток, приходя-

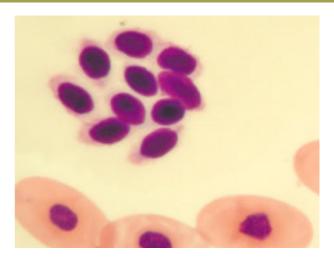


Рис. 4. Скопления тромбоцитов (Agrionemys horsfieldi, окраска Pappenheim) [10]

щихся на 200 лейкоцитов. Далее проводится пересчет полученных данных по формуле: Т/мкл = (количество тромбоцитов на 200 лейкоцитов) х (количество лейкоцитов в 1 мкл крови)/200.

В работе Tavares-Dias M. et al. [34] описывается метод подсчета тромбоцитов по окрашенному мазку. Авторы предлагают проводить пересчет количества тромбоцитов, приходящихся на 1000 или 2000 эритроцитов, в количество исследуемых клеток в 1 мкл крови по формуле: Т/мкл = (количество тромбоцитов на 1000 или 2000 эритроцитов) х (количество эритроцитов в 1 мкл крови)/1000 или 2000.

Используются методы подсчета тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов в гемацитометре с использованием для разведения крови раствора, описанного Otis V.S. или раствора Natt, Herrick (содержит хлорид натрия, фосфат натрия, сульфат натрия, фосфат калия, формалин, метиловый фиолетовый) [15, 16].

В исследованиях Troiano J.C. и др. [16] количество тромбоцитов в крови Crotatus durissus

Tr 7	Th.	~			U
тарпина з	Pasmenti T	ромбоцитов	HEKOTONLIY	RUTOR	пептипии
т иолици Э.	I asmepbi i	ромооцитов	пскоторых	видов	

Pen	тилии	По данным	Lc, мкм	Wc, мкм
Ряд черепахи	вид Testudo graeca	Kassab A. et al. [22]	5,84-6,67	4,23-5,01
Подряд ящерицы	вид Anatolacerta cap- padocica	Arican H. et al. [25]	6,35±0,32	5,33±0,21
Подряд змеи	вид Natrix natrix	Arican H. et al. [26]	9,32±0,31	5,86±0,12

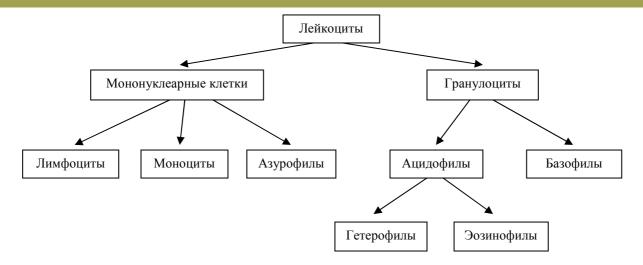


Рис. 5. Классификация клеток лейкоцитарного ряда крови рептилий

terrificus колеблется в среднем от 6650 до 8530 Γ/π ($10^9/\pi$), что зависит от возраста, пола животного и влияния сезонных факторов.

4. Особенности выведения лейкоцитарной формулы и подсчета количества лейкоцитов. Для дифференциации лейкоцитов и последующего выведения лейкоформулы крови рептилий рекомендуется окраска мазков по методу Паппенгейма. Кроме того, при стабилизации крови для исследования морфологических показателей следует отдавать предпочтение в качестве антикоагулянта гепарину перед трилоном Б. По мнению некоторых авторов (Мс Arthur S., Muro J. et al.), ЭДТА может вызывать разрушение клеток крови рептилий, в то время как при использовании гепарина химический гемолиз в результате действия антикоагулянта наблюдался в меньшей степени. Но, в то же время, гепарин в некоторых случаях влияет на тинкториальные свойства клеток (J.Walberg) [по 10].

Классификация клеток лейкоцитарного ряда затруднительна, так как в литературе отсутствует единая номенклатура, а исследования клеточного состава проводятся по различным, несогласованным методикам. Поэтому ниже, на рис. 5, представлена наиболее часто встречающаяся в литературе классификация лейкоцитов.

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 [6]. Так, нуклеарно-цитоплазматическое соотношение зрелого лимфоцита составляет 0,63 [27]. Ядро округлое или неправильной формы, окрашивается в сине-фиолетовый цвет (рис. 6).

В цитоплазме клетки могут встречаться небольшие азурофильные гранулы. В периферической крови рептилий, как и в крови млекопитающих, встречаются лимфоциты различных размеров: большие и малые.

Моноцит — клетка округлой, овальной или неправильной формы (рис. 7). Цитоплазма серо-голубого цвета; фиолетовое ядро овальной формы или «в форме почки» расположено эксцентрично и имеет менее конденсированные скопления хроматина, чем лимфоцит [8]. Нуклеарно-цитоплазматическое соотношение моноцита — 0,50.

Азурофил имеет округлую или овальную форму. Цитоплазма слабо базофильна (сероголубая) с большим количеством мелких гранул, напоминающих прозрачные вакуоли [6]. Ядро округло-овальной формы, окрашивается в сине-фиолетовый цвет, может быть смещено к периферии клетки (рис. 8). Размеры азурофилов, в большинстве случаев, меньше в сравнении с размерами типичных моноцитов.

Базофилы имеют округлую форму и меньшие размеры, чем другие гранулоциты. Гранулы цитоплазмы, окрашивающиеся в темнопурпурный цвет, плотно окружают ядро клетки, так, что оно едва различимо (рис. 9, 10, 11).



Рис. 6. Лимфоцит (L. macrorhynchus, окраска Wright) [26]

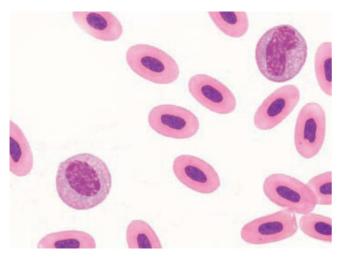


Рис. 8. Два незрелых азурофила (Varanus indicus, окраска Wright-Giemsa) [20]

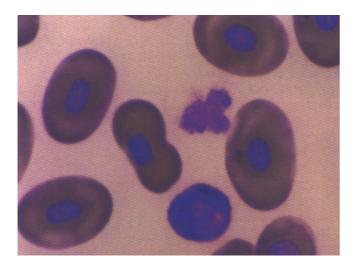


Рис. 10. Базофил, выше – искаженный лимфоцит (Green turtle, окраска Romanowsky) [24]

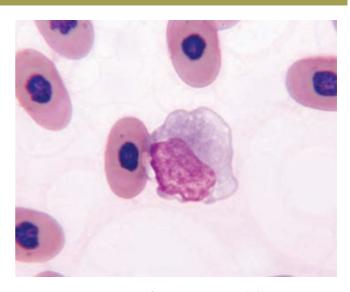


Рис. 7. **Моноцит (Gopherus agassizii, окраска** Wright-Giemsa) [20]

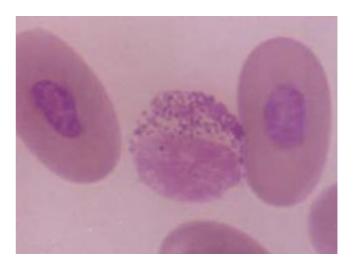


Рис. 9. Базофил (Golden spitting cobra, окраска Wright) [30]

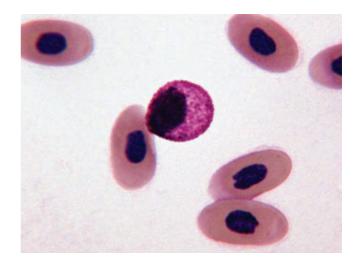


Рис. 11. Базофил (Iguana iguana, окраска Wright-Giemsa) [20]

Эозинофилы — округлые или неправильной формы клетки, ядро фиолетового цвета и расположено эксцентрично. Цвет гранул варьирует от ярко-розового (в этих же случаях гранулы гетерофилов имеют более тусклый оттенок розового) до голубого (рис. 12, 13) [21]. Нуклеарно-цитоплазматическое соотношение эозинофилов составляет 0,15.

Гетерофилы, как и другие гранулоциты, – клетки округлой формы. Ядро овальное или округлое, у некоторых видов ящериц – дольчатой формы (рис. 17) [27]. Нуклеарноцитоплазматическое соотношение – 0,14. Цвет

гранул может быть бледно-розовым [31] или оранжево-голубым, цитоплазма — светло-голубой или прозрачной [22] (рис. 15, 16). В некоторых случаях отличительной особенностью гетерофилов от эозинофилов, помимо тинкториальных особенностей, может служить различие в форме гранул: гетерофилы имеют более продолговатые (эллипсоидные) гранулы (рис. 14) [35].

Размеры клеток лейкоцитарного ряда крови некоторых видов рептилий представлены в табл. 4.

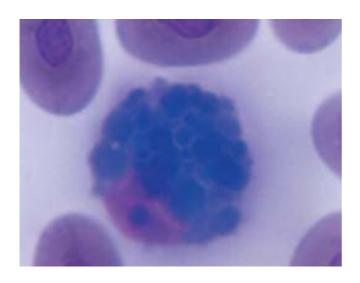


Рис. 12. Эозинофил (Golden spitting cobra, окpacka Wright-Giemsa) [30]

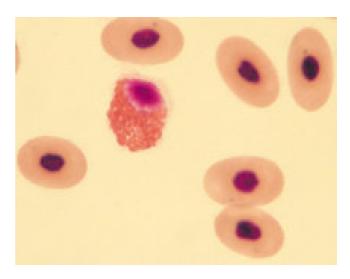


Рис. 13. Эозинофил (Agrionemys horsfieldi, окраска Pappenheim) [10]

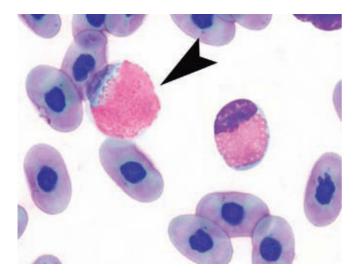


Рис. 14. Гетерофил с веретенообразными гранулами (слева) и эозинофил – с округлыми (Gopherus polyphemus, окраска Wright-Giemsa) [20]

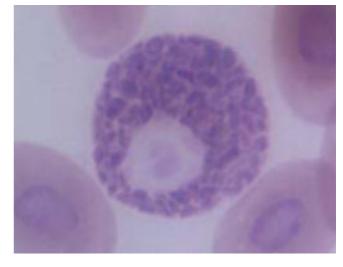


Рис. 15. Гетерофил (Golden spitting cobra, окраска Wright) [30]

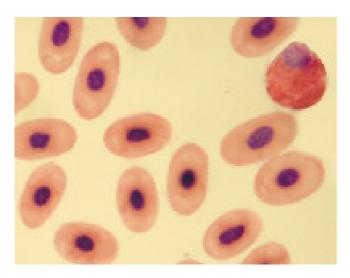
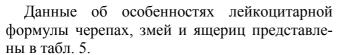


Рис. 15. Гетерофил (Golden spitting cobra, окpacka Wright) [30]



В зарубежной и отечественной литературе предлагается несколько методов подсчета количества лейкоцитов:

Для разведения крови используется раствор Natt, Herrick с последующим подсчетом форменных элементов в гемацитометре [1, 9, 16, 34].

Unopette® метод с использованием флоксина В. При добавлении реактива с данным красителем к исследуемому образцу крови, гетерофилы и эозинофилы окрашиваются в ярко-



Рис. 15. Гетерофил (Golden spitting cobra, окраска Wright) [30]

розовый цвет, что отличает их от других клеточных элементов. После подсчета количества ацидофильных клеток в гемацитометре и имея данные лейкоформулы, производится пересчет общего количества лейкоцитов с учетом степени разведения крови реактивом, количества гетерофилов и эозинофилов, подсчитанных в гемацитометре, и процентного соотношения гетерофилов и эозинофилов к другим видам лейкоцитов [21, 33].

Подсчет количества лейкоцитов, приходящихся на 1000 или 2000 эритроцитов по окрашенному мазку крови. Пересчет количества лейкоцитов в 1 мкл крови (WBC) производится

T ~ 4	D.	U			U
таолина 4.	Размеры	лейкопитов	некоторых	вилов	рептилии

		Источ-	Пара-	Лейкоциты					
Репт	ептилии ник метры Лимфоцит		оциты	Моно- циты	Гетеро- филы	Эозино- филы	Базо- филы		
		** 1	Lc, мкм 8,35-11,01		11,01	13,72- 16,05	14,51- 16,55	13,52- 15,06	11,81- 12,99
Ряд че- репахи	lestudo A. et al.		Wc, мкм	7,04-9,52		9,51- 11,64	11,93- 14,47	8,21- 17,96	11,55- 12,71
	gracea		Sc, мкм	47,99-85,31		99,90- 148,1	138,67- 194,6	107,61- 132,6	107,9- 130,2
Подряд ящери- цы	вид Ana- tolacerta cappado- cica	Arican H. et al. [25]	d (диаметр), мкм	большой 14,36±0, 3	малый 7,88±0,1	12,7±0,4	-	11,9±0,3	10,3±0,1
Подряд змеи	вид Na- trix na- trix	Arican H. et al. [26]	d (диаметр), мкм	большой 10,68±0, 7	малый 7,73±0,3	11,3±0,6	10,4±0,3	10,1±0,3	9,70±0,3

Таблица 5. Лейкоцитарная формула и гетерофильно - лимфоцитарное соотношение в крови некото-
рых видов рептилий

			Лейкоцитарная формула						Г/Л
Репл	илии	По дан-	Э	Б	Γ	Л	M	A	соотно-
		НЫМ	(эозино-	(базо-	(гетеро	(лимфо-	(моно-	(азуро-	шение
			филы)	филы)	-филы)	циты)	циты)	филы)	
Ряд чере- пахи	вид Go- pherus agassizii	Jacobson E.R. et al. [13]	2,0	16,0	36,0	30,0	12,0	не опр.	1,20
Подряд ящерицы	вид Iguana iguana	Васильев Д.Б. [1]	0,1	0,1	15,0	58,4	21,6	не опр.	0,26
Подряд змеи	вид Ophiopha- gus hannah	Salakij J. et al. [17]	1±1	4±3	41±13	48±8	3±1	15±7	0,85

Таблица 6. Количество лейкоцитов в 1 мкл крови некоторых видов рептилий

Реп	гилии	По данным	WBC, x 10 ³ /мкл
Ряд черепахи	вид Caretta caretta	Kakizoe Y. et al. [33]	4,7-9,3
Подряд ящерицы	вид Iguana iguana	Васильев Д.Б. [1]	7,7±3,2
Подряд змеи	вид Natrix natrix	Tosunoğlu M. et al. [18]	3.76±1.89

с учетом количества лейкоцитов, подсчитанных в мазке, и количества эритроцитов в 1 мкл крови по формуле: WBC/мкл = (количество лейкоцитов на 1000 или 2000 эритроцитов) х (количество эритроцитов в 1 мкл крови)/1000 или 2000 [34].

Также в некоторых источниках предлагается применение методов с использованием раствора, описанного Otis V.S. (1973) [по 15]; применение метода Rees, Ecker [34]; а также модификация с реактивом Тюрка [34, 18].

Средние показатели количества лейкоцитов в крови зеленой игуаны, змей и черепах представлены в табл. 6.

5. Влияние факторов различного генеза на величины гематологических показателей. На гематологические показатели крови рептилий оказывают влияние эндогенные факторы (возраст, пол, физиологическое состояние животного), а также факторы экзогенной природы (сезоны года и, соответственно, изменения показателей температуры окружающей среды, влажности и др.).

Исследования Kakizoe Y. и др. [33], проведенные на группе черепах Caretta caretta, говорят о том, что с возрастом происходят изменения в лейкоформуле рептилий: увеличивается процентное соотношение лимфоцитов уменьшается - гетерофилов. Также описано увеличение показателей красной (содержание гемоглобина, гематокрит) у старших особей, в сравнении с более молодыми (Wood F.E., Ebanks G.K.) [по 36]. Гендерные различия, в большинстве случаев, проявляются в увеличении таких показателей, как количество эритроцитов, гематокрит и содержание гемоглобина у самцов, и уменьшении этих же показателей у самок. В то же время, в работе Troiano J.C. и др. [16] возрастные и половые различия в показателях крови Crotatus durissus terrificus не выявлены.

Влияние гибернации, как физиологического состояния животного, на гематологические показатели характеризуется снижением в течение спячки величин эритроцитарной массы, количества лимфоцитов и базофилов (Christopher М.М. и др., 1999) [по 36].

Согласно Troiano J.C. et al. [16], показатели красной крови рептилий на 17-30% выше в зимнее время, а количество тромбоцитов и лейкоцитов на 15-20% больше в летний период. В работе Christopher M.M. et al. (1999) [по 36] утверждают обратное: в течение летнего периода увеличивается количество эритроцитов, содержание гемоглобина и гематокрит [36]. Предполагается, что увеличение количества лимфоцитов в летнее время связано с возрастающей активностью животного и, соответственно, риском развития инфекции [12].

Изменения показателей крови рептилий при различных патологических состояниях изучены не достаточно, поскольку на данный момент отсутствуют устоявшиеся нормальные показатели крови различных видов рептилий, нет общепринятого методического подхода к подсчету морфологических компонентов крови пресмыкающихся. Кроме того, следует отметить и тот факт, что недостаточно изученными

являются и многие аспекты патогенеза специфических болезней животных данного класса.

Вывод. На сегодняшний день в зарубежной и отечественной литературе имеется значительное количество работ, посвященных исследованию особенностей клеточного состава крови рептилий, что говорит об интенсивном изучении гематологии животных данного класса. Но, несмотря на это, не установлены нормы гематологических показателей для большинства видов рептилий, наиболее часто встречающихся в практике ветеринарного врача. Вероятно, это связано с использованием несогласованных методов исследования, а также недостаточно изученным влиянием сезонных факторов на показатели крови, что значимо для пресмыкающихся как для пойкилотермных животных. Дальнейшее изучение морфологических и биохимических показателей крови пресмыкающихся имеет большое значение, как для развития гематологии рептилий, так и для ветеринарной герпетологии в целом.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Васильев Д.Б. Теоретические и методологические основы ветеринарной герпетологии: автореф. дис. на соискание уч. степени доктора вет. наук: спец. 16.00.02 "Патология, онкология и морфология животных" / Д.Б. Васильев. М., 2007. 38 с.
- 2. Воробьева А.С. Сравнительная характеристика периферической крови змей Волжского бассейна / А.С. Воробьева // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. 2007. № 10. С. 25-30.
- 3. Воробьева А.С. Характеристика крови рептилий Волжского бассейна / А.С. Воробьева, С.В. Ганщук // Вопросы герпетологии: материалы Четвертого съезда Герпетологического общества им. А.М. Никольского (Казань, 12-17 октября 2009 г.), Санкт-Петербург: СПб: Русская коллекция, 2011. С. 66-69.
- 4. Ганщук С.В. Сравнительная характеристика периферической крови двух видов ящериц Камского Предуралья / С.В. Ганщук, А.С. Воробьева // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2009. Т. 18, № 1. С. 47-50.

- Гассо В.Я. Характеристика гематологічних показників крові рептилій / В.Я. Гассо, Е.Ю. Клименко // Вестник ДНУ. 2006. Вып. 2. № 13. С. 59-63.
- 6. Хайрутдинов И.З. Сравнительная морфология крови двух видов рептилий / И.З. Хайрутдинов, А.В. Павлов, Ф.М. Соколина // Вопросы герпетологии: материалы Третьего съезда Герпетологического общества им. А.М. Никольского (Пущино, 9-13 октября 2006 г.), Санкт-Петербург: СПб, 2008. С. 415-422.
- 7. Хайрутдинов И.З. Экология рептилий урбанизированных территорий (на примере г. Казани): автореф. дис. на соискание канд. биолог. наук: спец. 03.02.08 "Экология (биологические науки)" / И.З. Хайрутдинов. Казань, 2010. 24 с.
- 8. Arican H. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna / H. Arikan, K. Cicek // Acta Herpetologica. 2010. Vol. 5. № 2. P. 179-198.
- 9. Blood cell characteristics and some hematological values of Sand lizards (Leiolepis bel-

- liana rubritaeniata, Mertens, 1961) in Northeastern Thailand / S. Ponsen, C. Talabmook, N. Narkkong [et al.] // International Journal of Zoological Research. 2008. Vol. 4. № 2. P. 119-123.
- 10. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian Tortoises / Z. Knotkova, J. Doubek, Z. Knotek [et al.] // Acta Veterinaria Brno. 2002. Vol. 71. P. 191-198.
- 11. Blood cell morphology and plasma biochemistry of captive Mauremys caspica (Gmelin, 1774) and Mauremys rivulata (Valenciennes, 1833) / K. Metin, Y. Basimoğlu Koca, F. Kargin Kiral [et al.] // Acta Veterinaria Brno. 2008. Vol. 77. P. 163-174.
- 12. Campbell, T.W. Hematology of lower vertebrates / T.W. Campbell // American College of Veterinary Pathologists & American Society for Veterinary Clinical Pathology, Middleton WI, USA. 2004. Режим доступа: http://www.ivis.org/proceedings/ACVP/2004/Campbell1/ivis.pdf
- 13. Chronic upper respiratory-tract disease of free-ranging Desert tortoises (Gopherus agassizii) / E.R. Jacobson, J.M. Gaskin, M.B. Brown [et al.] // Journal of Wildlife Diseases. 1991. Vol. 27. P. 296-316.
- 14. Colagar H.A. Red blood cell morphology and plasma proteins electrophoresis of the European pond terrapin Emys orbicularis / H.A. Colagar, N. Jafari // African Journal of Biotechnology. − 2007. − Vol. 6. − № 13. − P. 1578-1581.
- 15. Haematological and blood chemical values from Bothrops ammodytoides (Ophidia-Crotalidae) in captivity / J.C. Troiano, J.C. Vidal, E.F. Gould [et al.] // Comparative Haematology International. 1999. Vol. 9. P. 31-35.
- Haematological reference intervals of the South American rattlesnake (Crotalus durissus terrificus, Laurenti, 1768) in captivity / J.C. Troiano, J.C. Vidal, J. Gould. [et al.] // Comparative Haematology International. 1997. Vol. 1. P. 109-112.
- 17. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (Ophiophagus hannah) / J. Salakij, S. Apibal, N.A. Narkkong [et al.] //

- Veterinary Clinical Pathology. 2002. Vol. 31. P. 116-126.
- 18. Hematological reference intervals of some snake species in Turkey / M. Tosunoğlu, C. Gül, N. Yilmay [et al.] // Turkish Journal Zoology. 2011. Vol. 35. № 2. P. 237-243.
- 19. Is aquatic life correlated with an increased hematocrit in snakes? / F. Brischoux, G. Gartner,
 T. Garland Jr [et al.] // PLoS ONE. 2011. –
 Vol. 6. Issue 2. P. 1-6.
- 20. Jacobson E.R. Infectious diseases and pathology of reptiles / E.R. Jacobson. USA: CRC Press, 2007. 716 p.
- 21. Johnson A. Avian and Reptile Hematology Laboratory for Technicians / Amy Johnson // 80th Western Veterinary Conference. — 2011. — Режим доступа: http://www.omnibooksonline.com/data/papers/2008-HO-26.pdf
- 22. Kassab A. Morphology of blood cells, liver and spleen of the Desert tortoise (Testudo graeca) / A. Kassab, S. Shousha, A. Fargani // The Open Anatomy Journal. 2009. Vol. 1. P. 1-10.
- 23. Morphological, cytochemical and ultrastructural observations on the blood cells of the reptile Tupinambis merianae (Squamata) / R.L. Carvalho, M.M. Antoniazzi, C. Jared [et al.] // Comp. Clin. Pathol. 2006. Vol. 15. P. 169-174.
- 24. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles / T.M. Work, R.E. Raskin, G.H. Balazs [et al.] // American Journal of Veterinary Research. 1998. Vol. 59. № 10. P. 1252-1257.
- 25. Morphology of peripheral blood cells from some Lacertid lizards from Turkey / H. Arikan, B. Gocmen, M.Z. Yildiz [et al.] // Russian Journal of Herpetology. 2009. Vol. 16. № 2. P. 101-106.
- 26. Morphology of peripheral blood cells from various Turkish snakes / H. Arikan, B. Göcmen, M.K. Atatür [et al.] // North-Western Journal of Zoology. 2009. Vol. 5. № 1. P. 61-73.
- 27. Orós J. Microscopic studies on characterization of blood cells of endangered sea turtles / J. Orós, A.B. Casal, A. Arencibia // Microscopy: Science, Technology, Applications and Educa-

- tion A. Méndez-Vilas and J. Diaz (Eds.). 2010. Vol. 1 P. 75-84.
- 28. Osmotic fragility and erythrocyte size in Iguana iguana (Sauria-Iguanidae) in captivity / J.C. Troiano, J.C. Vidal, E. Uriarte [et al.] // Comparative Haematology International. 2000. Vol. 10. P. 14-18.
- 29. Saint Girons M.C. Morphology of the circulating blood cells / M.C. Saint Girons // Biology of the reptilia. 1970. –Vol. 3. P. 73-91.
- 30. Salakij C. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in Monocellate cobra (Naja kaouthia), Siamese spitting cobra (Naja siamensis) and Golden spitting cobra (Naja sumatrana) / C. Salakij, J. Salakij, L. Chanhome // Kasetsart J. (Nat. Sci.). 2002. Vol. 36. P. 291-300.
- 31. Sevinc M. The morphology and size of blood cells of Lacerta rudis bithynica / M. Sevinc, I.
 H. Uğurtaş // Asiatic Herpetological Research.
 2001. Vol. 9. P. 122-129.
- 32. Stahl S.J. Reptile hematology and serum chemistry / Scott J. Stahl // Proceedings of the North American Veterinary Conference (Orlando, Florida, January 7-11, 2006), Small animal edition. 2006. Vol. 20. P. 1673-

- 1676. Режим доступа: http://www.ivis.org/proceedings/navc/2006/SAE/605.pdf
- 33. Successive changes of hematologic characteristics and plasma chemistry values of juvenile loggerhead turtles (Caretta caretta) / Y. Kakizoe, K. Sakaoka, F. Kakizoe [et al.] // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2007. Vol. 38 № 1. P. 77-84.
- 34. 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.
- 35. The morphological characterization of the blood cells in the Central Asian tortoise (Testudo horsfieldii) / M. Shadkhast, H.R. Shabazkia, A. Bigham-Sadegh [et al.] // Veterinary Research Forum. 2010. Vol. 1. № 3. P. 134-141.
- 36. Zhang F. A Review of Chelonian Hematology / F. Zhang. H. Gu, P. Li // Asian Herpetological Research. 2010. Vol. 2. № 1. P. 12-20.

ОСОБЛИВОСТІ ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЧНРГО СКЛАДУ КРОВІ РЕПТИЛІЙ

Ліснича О.М., Єфімов В.Г.

Дослідження присвячені вивченню особливостей морфологічного складу крові плазунів. В публікації проаналізовано і узагальнено наявні в літературі дані щодо особливостей гемопоезу, а також морфології клітинних елементів крові різноманітних представників цього класу тварин. Розглянуто основні методи підрахунку окремих клітин та кількісного складу крові рептилій і проведено їх порівняльний аналіз.

В статті наведено дані щодо морфологічного складу крові окремих видів рептилій та описано їх залежність від вікових, сезонних і статевих факторів, а також показано їх зміни за дії чинників навколишнього середовища.

Порівняльний аналіз показав, що референтні величини для більшості видів рептилій відсутні. Напевне, це пояснюється використанням неузгоджених методів досліджень, а також варіабельністю морфологічного прояву клітин крові у різних представників цього класу. Можливою причиною наявних розбіжностей є вплив температури на організм пойкілотермних тварин

Ключові слова: рептилії, клітини крові, морфологія, методи дослідження

FEATURES STUDY MORPHOLOGICAL COMPOSITION OF BLOOD REPTILES

Lisnychaya Y., Yefimov V.

The study devoted to research the morphological characteristics of the blood of reptiles. This publication analyzes and summarizes the available literature data on the characteristics of haematopoiesis and morphology of blood cells of various members of this class of animals. The main methods of differential cells counting and quantitative composition of the blood of reptiles discussed and conducted a comparative analysis.

The article presents information about the morphological structure of blood of some species of reptiles and describes their dependence on age, sex and seasonal factors as well as their changes by the action of environmental factors.

Comparative analysis showed that the reference values for the majority of reptile species are absent. Perhaps this is due to the use of inconsistent research methods and variability of morphological manifestations of blood cells in the different members of this class. A possible reason for existing differences is the effect of temperature on the body of reptiles

Keywords: reptiles, blood cells, morphology, research methods