

ОСОБЕННОСТИ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО СОСТАВА КРОВИ САМОК ОБЫКНОВЕННОГО УЖА (*NATRIX NATRIX*) И ВОДЯНОГО УЖА (*N. TESSELLATA*) (REPTILIA: COLUBRIDAE) САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. Б. Романова¹, В. Ю. Николаев¹, А. Г. Бакиев², А. А. Клёнина²

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

E-mail: romanova@bio.unn.ru, darthtiger@yandex.ru

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

E-mail: herpetology@list.ru, colubrida@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.04.2015 г.

Изучение лейкоцитарной формулы самок периферической крови ужа обыкновенного и ужа водяного Самарской области позволило выявить изменения, происходящие в крови этих змей до и после откладывания яиц, связанные с активацией естественного иммунитета животных. Реакции естественного, неспецифического иммунитета опосредовались мононуклеарными клетками – моноцитами и лимфоцитами. Показано, что возрастание доли лимфоцитов в крови самок ужа водяного приводит к снижению индекса сдвига лейкоцитарной формулы. Выявлены межвидовые различия, проявляющиеся в существенном повышении доли моноцитов в периферической крови самок ужа водяного по сравнению с самками ужа обыкновенного после откладывания яиц.

Ключевые слова: *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, лейкоцитарная формула, рептилии, периферическая кровь, иммунный статус.

ВВЕДЕНИЕ

Важной областью экологической иммунологии является изучение иммуногематологических показателей животных антропогенных территорий. Рептилии – единственные эктотермные амниоты, не подвергающиеся метаморфозу – являются одним из самых удобных объектов среди позвоночных животных по изучению механизмов адаптации животного мира к постоянно меняющимся условиям окружающей среды. Лимфоидную и кровеносную системы рептилий объединяют в единый лимфомиелоидный комплекс, в который входят, в частности, костный мозг, тимус, селезенка, малые лимфатические узлы, лимфоидные образования кишечника. Все эти образования формируют как врожденный (неспецифический), так и адаптивный (приобретенный) иммунитет и связаны между собой циркулирующими в кровотоке молекулами и клетками. Неспецифические иммунные ответы рептилий во многих случаях протекают сильнее, чем у млекопитающих, и относительно изучены (Coico et al., 2003; Scapigliati et al., 2006). Реакции же адаптивного иммунитета, включая клеточный и гуморальный ответы, практически не исследованы. Между тем изучение механизмов иммунной защиты природных популяций рептилий, находящихся под воздействием

комплекса биотических и абиотических факторов среды (инфекций, загрязняющих веществ, температуры и т.д.) в естественные периоды жизненной активности, имеет большой научный потенциал.

Целью работы являлось изучение особенностей лейкоцитарного состава крови самок ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и ужа водяного *N. tessellata* (Laurenti, 1768) Самарской области до и после откладывания яиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отлов самок этих двух видов змей проводили в окрестностях с. Мордово (Россия, Самарская область, Ставропольский район, координаты: широта: 53°10'31.14"N (53.175317); долгота: 49°27'10.01"E (49.45278)) в полевой сезон 2014 г. Кровь брали из верхнечелюстной вены ужа, пункция проводилась иглой, смоченной в гепарине. Время взятия крови: до (23 июня) и после (23 июля) откладывания яиц. После этого ужей возвращали в место отлова. От каждой особи готовили мазки крови общепринятым гематологическим методом и окрашивали по Романовскому – Гимзе. Готовые мазки просматривали с иммерсией, при увеличении 1600 подсчитывалась лейкоцитарная формула, затем рассчитывался индекс сдвига лейкоцитарной формулы (Житенева и др., 1997)

$I = \sum X_{гp} / \sum X_{агp}$. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с учетом нормальности распределения данных параметрическим методом с расчетом критерия Стьюдента (t), параметрического корреляционного коэффициента Пирсона (r) в пакете прикладных программ «Statistica». За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что на проявление иммунных реакций и гематологические показатели крови рептилий оказывают влияние возраст, пол, физиологическое состояние животных, а также сезоны года и изменение абиотических факторов среды (Воробьева, 2001; Kakizoe et al., 2007; Martin et al., 2008; Martin, 2009; Zhang, 2010). В настоящее время активно обсуждаются особенности исследования морфологического состава крови рептилий (Лисничая, Ефимов, 2014; Stahl, 2006; Tavares-Dias et al., 2008; Oros et al., 2010) в связи с отсутствием как единого подхода к определению клеток, так и норм гематологических показателей. Кроме того, при дифференцировке лейкоцитов белой крови рептилий возникают определённые трудности, связанные с многовариантными формами зернистости в гранулоцитах и наличием не сегментированных или нечётко сегментированных ядер (Соколова и др., 1997). В предыдущей нашей работе (Романова и др., 2014) мы оценивали лейкоцитарный состав крови змей, выделяя в нем гетерофилы, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты. Согласно последним данным, большинство исследователей дифференцируют лейкоциты рептилий на гранулоциты, представленные тремя типами крупных клеток: гетерофилами, эозинофилами и базофилами, и на мононуклеарные клетки, к которым относятся азурофилы, моноциты и лимфоциты (Хайрутдинов, Соколова, 2010; Лисничая, Ефимов, 2014; Stacy et al., 2011; Arican, Cicek, 2014). Ниже приводятся цифровые изображения лейкоцитарных клеток ужей, выполненные камерой Vision CAM для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (ув. x 1600) (рис. 1–6).

Моноциты – большие мононуклеарные клетки, производные костномозговых предшественников, в неспецифическом иммунитете выполняют функцию фагоцитирующих клеток (рис. 1). Азурофилы по размеру меньше моноцитов, имеют округлую форму и несегментированное ядро с компактным хроматином (рис. 2). В цитоплазме азурофилов располагаются многочисленные мелко- и грубозернистые гранулы и фибриллярные

нити. Эти агранулярные клетки происходят из моноцитарного ствола и являются незрелыми моноцитами (Хайрутдинов и др., 2008; Хайрутдинов, Соколова, 2010).



Рис. 1. Моноцит периферической крови *Natrix natrix*

Лимфоциты ответственны за специфические клеточные и гуморальные реакции адаптивного иммунитета рептилий (рис. 3). Некоторые исследователи полагают, что лимфоциты рептилий могут выполнять и фагоцитарную функцию (Li et al., 2006; Zimmerman et al., 2010).

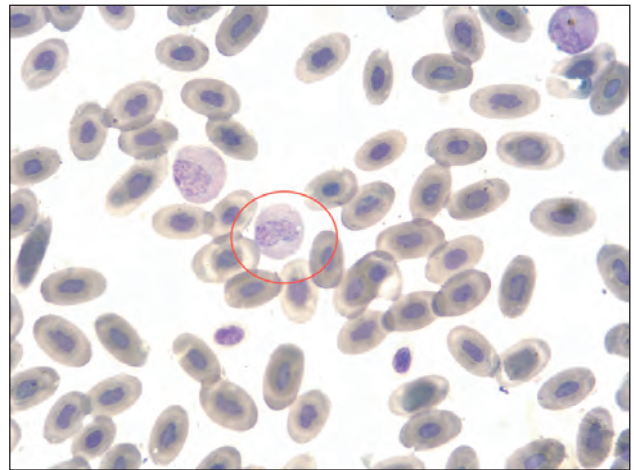


Рис. 2. Азурофил периферической крови *Natrix tessellata*

Гранулоциты представлены в крови ужей тремя видами клеток: гетерофилами, эозинофилами и базофилами. Гетерофилы – клетки округлой формы, размеры которых могут варьировать в широких пределах между видами (Montali, 1988), с овальным или круглым ядром и эллипсоидными, не всегда четкими гранулами (рис. 4). Гетерофилы функционально эквивалентны нейтрофилам млекопитающих, подавляют микробное втор-

жение и также участвуют в воспалительных реакциях. Эозинофилы могут иметь округлую и неправильную форму, ядро расположено всегда эксцентрично. Цвет гранул желтовато-розоватый, форма гранул округлая и четкая (рис. 5). Известно, что у

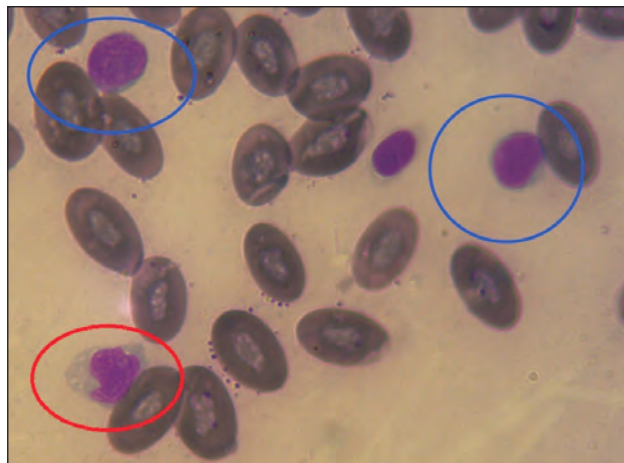


Рис. 3. Лимфоциты (синие круги) и моноцит периферической крови *Natrix natrix*

млекопитающих эозинофилы играют важную роль в защите от паразитарных инфекций, продуцируя пероксиды (H_2O_2) и супероксидные радикалы (O_2^-) (Coico, 2003). Выполняют ли эозинофилы рептилий аналогичную роль – пока остается неясным. Базофилы имеют округлую форму и меньшие размеры, чем другие гранулоциты. Гранулы имеют темно-фиолетовый цвет, плотно окружают ядро (рис. 6). На базофилах экспрессируются поверхностные рецепторы для иммуноглобулина, и при перекрестном связывании присоединенного к базофилам иммуноглобулина с антигеном начинается опустошение базофильных гранул, содержащих гистамин. Реакция высвобождения гистамина у рептилий длится около 40 – 60 мин., независимо от концентрации антигена, тогда как у млекопитающих завершается за 2 мин. (Sypek et al., 1984).

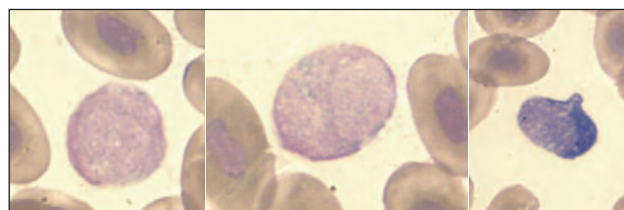


Рис. 4. Гетерофилы периферической крови *Natrix tessellata*

Анализ лейкоцитарной формулы ужа обыкновенного до и после откладывания яиц выявил

статистически значимое возрастание в периферической крови доли эозинофильных гранулоцитов ($t = 2.98$; $a = 0.01$) и снижение доли моноцитов ($t = 4.52$; $a = 0.001$) (табл. 1).

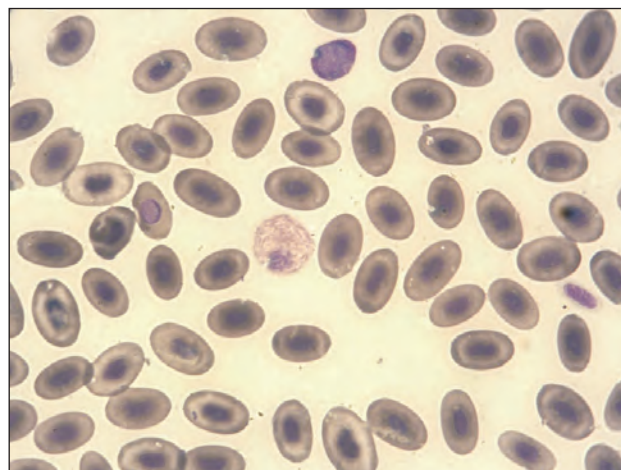


Рис. 5. Эозинофил периферической крови *Natrix tessellata*

Отметим, что при попарном сравнении лейкоцитарных формул самок ужа обыкновенного (до и после откладки яиц) различия подтверждались только для моноцитов (табл. 2).

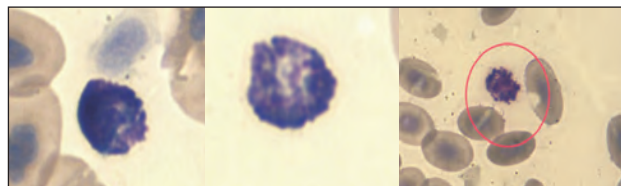


Рис. 6. Базофилы периферической крови *Natrix tessellata*

Для выборки самок водяного ужа выявлено статистически значимое возрастание доли моноцитов ($t = 3.75$; $a = 0.0006$), снижение доли базофилов ($t = 2.46$; $a = 0.01$) и уменьшение лейкоцитарного индекса после откладки яиц ($t = 2.21$; $a = 0.03$). Особенностью периферической крови этого вида змей явилось наличие большого числа азурофилов: крупных округлых клеток с несегментированным ядром и компактным хроматином (табл. 3).

Результаты попарного сравнения лейкограмм периферической крови самок ужа водяного подтвердили возрастание доли моноцитов и снижение доли базофилов в крови самок после откладки яиц (табл. 4).

Отметим, что межвидовых различий в лейкоцитарных формулах между самками ужа обыкновенного и ужа водяного до откладывания яиц не

Таблица 1

Лейкоцитарная формула периферической крови самок ужа обыкновенного *Natrix natrix*

Показатель лейкограммы, %	Время взятия крови		Критерий Стьюдента (<i>t</i>)	Уровень значимости (α)
	до откладки яиц (<i>n</i> = 5)	после откладки яиц (<i>n</i> = 6)		
Гетерофилы	11.20 ± 3.38	7.50 ± 1.05	1.13	0.28
Эозинофилы	7.40 ± 1.53	12.66 ± 0.98	2.98	0.01
Базофилы	11.60 ± 1.63	10.83 ± 1.60	0.33	0.74
Азурофилы	8.40 ± 0.63	9.16 ± 1.33	0.49	0.63
Моноциты	3.00 ± 0.31	1.33 ± 0.21	4.52	0.001
Лимфоциты	58.40 ± 5.75	58.50 ± 1.60	0.01	0.98
Лейкоцитарный индекс	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.05	0.10	0.92

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения показателей, при сравнении которых выявлены статистически значимые различия ($\alpha < 0.05$).

было выявлено ни по одному показателю. Но выявлены межвидовые различия после откладки яиц, касающиеся мононуклеарных клеток и проявляющиеся в существенном повышении доли моноцитов в периферической крови самок ужа водяного по сравнению с самками ужа обыкновенного ($z = 3.41$; $\alpha = 0.0039$) (рис. 7).

Полученные результаты свидетельствовали об активации естественного иммунитета рептилий при беременности. Известно, что лейкоцитарные клетки периферической крови рептилий ответственны за проявление как реакций

врожденного (естественного) иммунитета (макрофаги, гетерофилы, базофилы и эозинофилы), так и адаптивного (приобретенного) иммунного ответа (лимфоциты). Моноциты (см. рис. 1) – крупные мононуклеарные клетки, производные костномозговых предшественников – в неспецифическом иммунитете выполняют роль фагоцитирующих и антигенпрезентирующих клеток и продуцируют цитокины – эндогенные регуляторы иммунного ответа (Coico et al., 2003). Фагоцитарная активность макрофагов у рептилий определяется температурой окружающей среды

Таблица 2

Лейкоцитарная формула периферической крови самок ужа обыкновенного *Natrix natrix* (попарное сравнение)

Показатель лейкограммы, %	Среднее арифметическое значение до откладки яиц (<i>n</i> = 4)	Среднее арифметическое значение после откладки яиц (<i>n</i> = 4)	Критерий Стьюдента (<i>t</i>)	Уровень значимости (α)
Гетерофилы	13.75	7.00	2.16	0.07
Эозинофилы	8.00	13.00	2.23	0.06
Базофилы	12.75	11.00	0.76	0.47
Азурофилы	8.75	9.00	0.15	0.88
Моноциты	3.00	1.50	3.00	0.02
Лимфоциты	53.75	58.50	0.93	0.38

Примечание. См. примечание к табл. 1.

Таблица 3

Лейкоцитарная формула периферической крови самок ужа водяного *Natrix tessellata*

Показатель лейкограммы, %	Время взятия крови		Критерий Стьюдента (<i>t</i>)	Уровень значимости (α)
	до откладки яиц (<i>n</i> = 22)	после откладки яиц (<i>n</i> = 16)		
Гетерофилы	11.18 ± 0.96	9.68 ± 0.97	1.06	0.29
Эозинофилы	11.04 ± 0.86	11.18 ± 1.00	0.10	0.91
Базофилы	10.36 ± 1.06	6.81 ± 0.83	2.46	0.01
Азурофилы	12.86 ± 1.00	12.81 ± 1.33	0.03	0.79
Моноциты	2.45 ± 0.39	5.25 ± 0.69	3.75	0.0006
Лимфоциты	52.09 ± 1.15	54.25 ± 2.19	0.93	0.35
Лейкоцитарный индекс	0.49 ± 0.02	0.39 ± 0.03	2.21	0.03

Примечание. См. примечание к табл. 1.

Таблица 4

Лейкоцитарная формула периферической крови самок ужа водяного *Natrix tessellata* (попарное сравнение)

Показатель лейкограммы, %	Среднее арифметическое значение до откладки яиц ($n = 15$)	Среднее арифметическое значение после откладки яиц ($n = 15$)	Критерий Стьюдента (t)	Уровень значимости (α)
Гетерофилы	11.00	9.93	0.69	0.49
Эозинофилы	10.80	11.40	0.40	0.68
Базофилы	10.33	6.40	2.67	0.01
Азурофилы	13.33	13.00	0.17	0.86
Моноциты	2.13	5.26	3.63	0.001
Лимфоциты	52.40	54.00	0.56	0.57
Лейкоцитарный индекс	0.48	0.39	1.66	0.10

Примечание. См. примечание к табл. 1.

(Mondal, Rai, 2002). По-видимому, в ответ на действие эндотоксинов и загрязнителей водной среды моноциты беременных самок усиливают выработку провоспалительных цитокинов, активируя систему естественного иммунитета. Кроме того, макрофаги являются и основными участниками воспалительной реакции, формирующейся в ответ на тканевое повреждение и инфекцию. Механизмы воспалительной реакции и миграции клеток крови у рептилий еще только начинают исследоваться, но можно полагать, что клеточные и растворимые факторы обладают разнонаправленным модулирующим действием на врожденное и адаптивное звенья иммунной системы самки, что приводит к тому, что специфический

иммунный ответ подавляется, а неспецифический, наоборот, усиливается.

Известно, что внеклеточные патогены индуцируют у рептилий образование гетерофильных гранулем, где гетерофилы накапливаются, дегранулируют и впоследствии подвергаются некрозу. Миграцию клеток белой крови в очаг воспаления могут вызывать и эндогенные белковые регуляторы (цитокины и хемокины), продуцируемые у рептилий лимфоцитами (Zhou et al., 2009).

Индекс сдвига лейкоцитарной формулы может свидетельствовать о напряженности компенсаторных процессов в организме. Снижение этого показателя связано с возрастанием доли агранулоцитов в крови рептилий, а повышение – с возрастанием доли гранулоцитарных миелоцитов. Значимое снижение лейкоцитарного индекса у самок ужа водяного после откладывания яиц подтверждало активацию иммунных реакций у животных. Для исследования линейной связи интегрального показателя лейкоцитарного индекса с каждым показателем лейкоцитарной формулы был использован параметрический корреляционный метод Пирсона. Для самок ужа обыкновенного до откладывания яиц установлена сильная прямая корреляция лейкоцитарного индекса с количеством гетерофилов ($r = 0.95$; $p = 0.011$), базофилов ($r = 0.94$; $p = 0.014$) и обратная корреляция с числом лимфоцитов ($r = -0.98$; $p = 0.002$). После откладывания яиц не выявлено линейной корреляции лейкоцитарного индекса ужа обыкновенного ни с одним из показателей лейкограммы. Для самок ужа водяного до откладывания яиц установлена умеренная прямая корреляция лейкоцитарного индекса с числом базофилов ($r = 0.61$; $p = 0.015$), эозинофилов ($r = 0.55$; $p = 0.03$) и обратная умеренная корреляция с числом лимфоцитов ($r = -0.66$; $p = 0.007$).

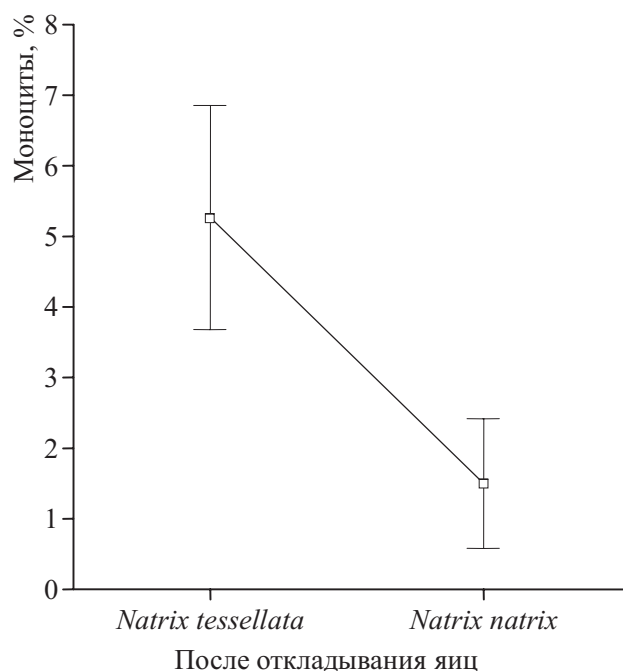


Рис. 7. Доля моноцитов в периферической крови двух видов ушей после откладывания яиц (средние значения и доверительный интервал 95%)

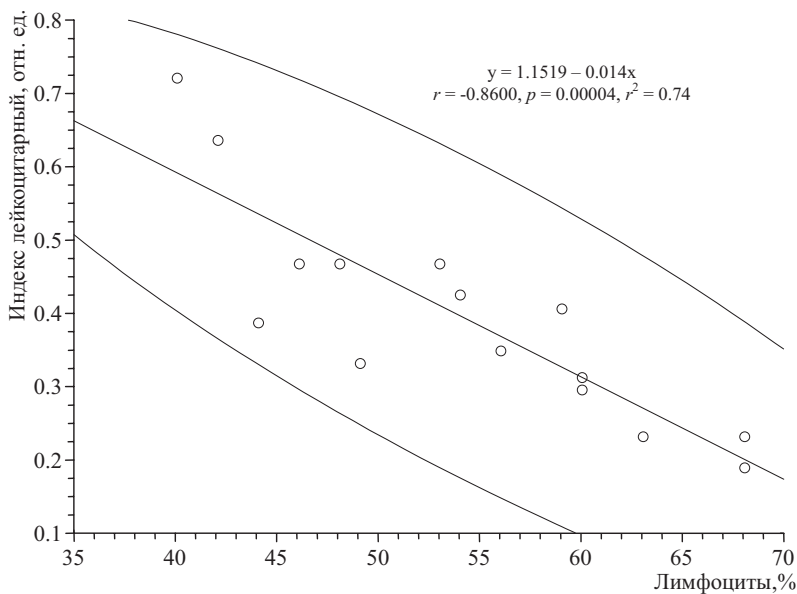


Рис. 8. График рассеивания при анализе корреляционной связи лейкоцитарного индекса и доли лимфоцитов в периферической крови самок *Natrix tessellata*

После откладывания яиц взаимосвязь количественных показателей лейкограммы усиливалась. Так, значение коэффициента корреляции между лейкоцитарным индексом и показателями гранулоцитов составляло: для гетерофилов – $r = 0.56$; $p = 0.02$; для эозинофилов – $r = 0.74$; $p = 0.001$; для базофилов – $r = 0.63$; $p = 0.01$; для лимфоцитов – $r = -0.86$; $p = 0.00003$. Полученные данные свидетельствуют о том, что значения лейкоцитарного индекса и количественные показатели лейкоцитарной формулы у самок ужа водяного высоко значимо скоррелированы как до, так и после откладывания яиц. График рассеивания при анализе корреляционной связи лейкоцитарного индекса и долей лимфоцитов в крови ужа водяного выявил обратную корреляцию между этими показателями и показал, что примерно на 74% (показатель детерминации $R^2 = 0.74$) дисперсия лейкоцитарного индекса объясняется дисперсией числа лимфоцитов в периферической крови ужа водяного (рис. 8). Как известно, наличие корреляции между двумя показателями не обязательно означает наличие прямой причинно-следственной связи между ними (Реброва, 2006). Согласованные изменения исследованных показателей могли быть следствием количественной вариации другого типа иммунокомпетентных клеток или изменением гормонального статуса змей, связанного с беременностью. В литературе имеются сведения о половых различиях в пролиферации лимфоцитов у рептилий (Saad,

1989). Известно, что у самок выше пролиферативный ответ лимфоцитов на митогены, по сравнению с самцами, а у небеременных – выше, чем у беременных (Salem, 2004), что объясняется изменениями в выработке стероидных гормонов.

Таким образом, показано, что возрастание доли лимфоцитов приводит к снижению индекса сдвига лейкоцитарной формулы крови рептилий. Выявлены межвидовые различия, проявляющиеся в существенном повышении доли моноцитов в периферической крови самок ужа водяного по сравнению с самками ужа обыкновенного ($z = 3.41$, $\alpha = 0.0039$) после откладки яиц. Изменение соотношения разных типов лейкоцитарных клеток в периферической крови ужей свидетельствует об активации механизмов врожденного иммунитета у самок при беременности.

Благодарности

Авторы признательны Н. М. Акуленко и А. В. Павлову за ценные советы при обсуждении рукописи, а также Д. Б. Васильеву, Р. В. Желанкину, А. А. Кириллову и А. D. Mihalca – сведущим коллегам в области паразитологии, благодаря которым мы исключили ошибочный раздел из статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Воробьева А. С. 2001. Сравнительная характеристика периферической крови змей Волжского бассейна // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии / Ин- экологии Волжского бассейна РАН. Тольятти. Вып. 10. С. 25 – 30.
- Житенева Л. Д., Рудницкая О. А., Калужная Т. И. 1997. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб : справочник. Ростов н/Д : АзНИИРХ. 149 с.
- Лисничая Е. Н., Ефимов В. Г. 2014. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий // Научно-технический бюллетень НДЦ биобезопасности та екологічного контролю ресурсів АПК. Т. 2, № 1. С. 61 – 74.
- Реброва О. Ю. 2006. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М. : МедиаСфера. 312 с.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Бакиев А. Г., Клёнина А. А. 2014. Лейкоцитарный состав крови обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа

- (*N. tessellata*) из Национального парка «Самарская Лука» // Изв. Самар. науч. центра РАН. Т. 16, № 1. С. 152 – 155.
- Соколина Ф. М., Павлов А. В., Юсупов Р. Х. 1997. Гематология пресмыкающихся : метод. пособие к курсу герпетологии, большому практикуму и семинарам. Казань : Изд-во Казан. ун-та. 31 с.
- Хайрутдинов И. З., Павлов А. В., Соколина Ф. М. 2008. Сравнительная морфология крови двух видов рептилий // Вопросы герпетологии : материалы Третьего съезда Герпетол. о-ва им. А. М. Никольского / Зоол. ин-т РАН. СПб. С. 415 – 422.
- Хайрутдинов И. З., Соколина Ф. М. 2010. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями среды обитания : учеб.-метод. пособие к курсу «Герпетология». Казань : Изд-во Казан. ун-та. 44 с.
- Arican H., Cicek K. 2014. Haematology of amphibians and reptiles : a review // North-Western J. of Zoology. Vol. 10, № 1. P. 190 – 209.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. 2003. Immunology. A Short Course. Hoboken : Wiley-Liss Publications. 500 p.
- Kakizoe Y., Sakaoka K., Kakizoe F. 2007. Successive changes of hematologic characteristics and plasma chemistry values of juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*) // J. of Zoo and Wildlife Medicine. Vol. 38, № 1. P. 77 – 84.
- Li J., Barreda D. R., Zhang Y. A., Boshra H., Gelman A. E., Lapatra S., Tort L., Sunyer J. O. 2006. B lymphocytes from early vertebrates have potent phagocytic and microbiological abilities // Nature Immunology. Vol. 7, № 10. P. 1116 – 1124.
- Martin L. B. 2009. Stress and immunity in wild vertebrates : timing is everything // General and Comparative Endocrinology. Vol. 163, № 1. P. 70 – 76.
- Martin L. B., Weil Z. M., Nelson R. J. 2008. Seasonal changes in vertebrate immune activity : mediation by physiological trade-offs // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences. Vol. 363. P. 321 – 339.
- Mondal S., Rai U. 2002. *In vitro* effect of sex steroids on cytotoxic activity of splenic macrophages in wall lizard (*Hemidactylus flaviviridis*) // General and Comparative Endocrinology. Vol. 125, № 2. P. 264 – 271.
- Montali R. J. 1988. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) // J. Comparative Pathology. Vol. 99, № 1. P. 1 – 26.
- Oros J., Casal A. B., Arencibia A. 2010. Microscopic studies on characterization of blood cells of endangered sea turtles // Microscopy : Science, Technology, Applications and Education. Vol. 1. P. 75 – 84.
- Saad A. H. 1989. Sex-associated differences in the mitogenic responsiveness of snake blood lymphocytes // Developmental and Comparative Immunology. Vol. 13, № 3. P. 225 – 229.
- Salem M. L. 2004. Estrogen, a double-edged sword : modulation of TH1-and TH2-mediated inflammations by differential regulation of TH1/TH2 cytokine production // Current Drug Targets. Inflammation and Allergy. Vol. 3, № 1. P. 97 – 104.
- Scapigliati G., Buonocore F., Mazzini M. 2006. Biological activity of cytokines : an evolutionary perspective // Current Pharmaceutical Design. Vol. 12, № 24. P. 3071 – 3081.
- Stacy N. I., Alleman A. R., Saylor K. A. 2011. Diagnostic hematology of Reptiles // Clinics in Laboratory Medicine. Vol. 31, iss. 1. P. 87 – 108.
- Stahl S. J. 2006. Reptile hematology and serum chemistry // Proc. of the North American Veterinary Conference. Vol. 20. P. 1673 – 1676.
- Sypek J. P., Borysenko M., Findlay S. R. 1984. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* // Developmental and Comparative Immunology. Vol. 8, № 2. P. 359 – 366.
- Tavares-Dias M., Oliveira-Junior A. A., Marcon J. L. 2008. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, *Pseudemys ex-pansa*) : an analysis and discussion // Acta Amazonica. Vol. 38, № 2. P. 351 – 356.
- Zhang F. 2010. A Review of Chelonian Hematology // Asian Herpetology Research. Vol. 2, № 1. P. 12 – 20.
- Zhou X., Guo Q., Dai H. 2009. Molecular characterization and expression profiles in response to bacterial infection of Chinese soft-shelled turtle interleukin-8 (IL-8), the first reptilian chemokine gene // Developmental and Comparative Immunology. Vol. 33, № 7. P. 838 – 847.
- Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. 2010. Understanding the vertebrate immune system: insights from the reptilian perspective // J. of Experimental Biology. Vol. 213. P. 661 – 671.

Е. Б. Романова, В. Ю. Николаев, А. Г. Бакиев, А. А. Клёнина

**LEUKOCYTE BLOOD COMPOSITION FEATURES
OF GRASS SNAKE (*NATRIX NATRIX*)
AND DICE SNAKE (*N. TESSELLATA*) (REPTILIA: COLUBRIDAE) FEMALES
IN THE SAMARA REGION**

Е. Б. Романова¹, В. Ю. Николаев¹, А. Г. Бакиев², and А. А. Кленина²

¹ *Nizhny Novgorod's Lobachevsky State University*

23 Gagarina Av., Nizhny Novgorod 603950, Russia

E-mail: romanova@bio.unn.ru, darhtiger@yandex.ru

² *Institute of Ecology of the Volga River Basin, Russian Academy of Sciences*

10 Komzin Str., Togliatti 445003, Russia

E-mail: herpetology@list.ru, colubrida@yandex.ru

Our study of the peripheral blood leukogram of grass snake and dice snake females (Samara region) has revealed changes in the blood of these snakes before and after their laying eggs, associated with the natural immunity activation in these animals. Natural, innate immunity reactions were mediated by mononuclear cells (monocytes and lymphocytes). An increase in the lymphocyte fraction in the dice snake female blood is shown to reduce the leukogram shift index. Interspecific differences were revealed, manifested themselves as a significant increase in the monocyte fraction in the peripheral blood of dice snake females as compared with grass snake females after laying eggs.

Key words: *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, leukogram, reptiles, peripheral blood, immune status.