

УДК: 591.1.

## КИСЛОТНАЯ И ОСМОТИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ БОЛОТНОЙ ЧЕРЕПАХИ (*EMYS ORBICULARIS*) ДАГЕСТАНА

© 2017 С.А. Байрамбекова, П.П. Абдурахманова, Р.И. Магомедкамилова

Дагестанский государственный университет

Статья поступила в редакцию 22.05.2017

В статье представлены результаты исследования кислотной и осмотической устойчивости эритроцитов крови особей Болотной черепахи (*Emys orbicularis*), обитающих в различных природно-климатических условиях. Полученные результаты свидетельствуют о качественных отличиях состава эритроцитов *E. Orbicularis* из различных популяций Дагестана, которые выражаются в разной интенсивности и общей продолжительности кислотного гемолиза эритроцитов, а также в различном соотношении низко- и высокостойких эритроцитов. Преобладание в северной популяции *E. Orbicularis* эритроцитов с высокой кислотной и осмотической резистентностью авторы связывают с адаптивными изменениями физиологических показателей красных клеток крови в условиях более сурового климата.

Ключевые слова: болотная черепаха, эритроцит, кислотная устойчивость, хлорид натрия, адаптация

Адаптация живых организмов к условиям окружающей среды приобретает особую остроту в современных условиях, когда темпы технологических и климатических изменений в мире требуют постоянных адаптаций организма к условиям существования. При этом важную роль играет мобилизация адаптационных резервов, обеспечивающих поддержание его жизнедеятельности в различных условиях среды обитания. К числу функциональных систем, поддерживающих нормальную жизнедеятельность организма, относится система красной крови, способная благодаря эффективным обратным связям сохранять гомеостаз в условиях многофакторного воздействия экзогенных и эндогенных факторов. Возникающие при этом изменения морфофункциональных свойств эритроцитов отражаются на стойкости эритроцитарных мембран, являющихся интегральным показателем клеточных мембран [2, 3, 8, 9]. Роль мембран в регуляции осмотического объема клеток крови показана многими авторами [12]. Показателем стойкости эритроцитарных мембран служит резистентность красных клеток.

В опубликованной литературе гематологические исследования эктотермных тетрапод немногочисленны. Ряд авторов описывают клетки крови различных видов пресмыкающихся [1, 10-12, 15-18]. Однако в их исследованиях в основном делается упор на изучение морфологических характеристик клеток крови тетрапод без учета их физиологических особенностей [7, 13]. Между тем общеизвестно, что адаптивные процессы в организме, в первую очередь выражаются в изменении физиологических функций. Изменения физиологических характеристик крови пресмыкающихся при адаптации к условиям обитания изучены не достаточно [6, 11],

поскольку на данный момент отсутствуют устоявшиеся нормальные показатели крови различных видов рептилий, нет общепринятого методического подхода к подсчету морфологических компонентов крови пресмыкающихся. В Дагестане подобного рода исследования практически отсутствуют. Между тем, условия обитания эктотермных тетрапод в республике весьма разнообразны, что связано со значительной зональной и вертикальной поясностью.

**Цель исследования:** изучение кислотной и осмотической устойчивости эритроцитов крови южной и северной популяции Болотной черепахи (*Emys orbicularis*), как показателя адаптации к условиям обитания.

**Материал и методы.** Объектами исследования послужили половозрелые особи Болотной черепахи (*Emys orbicularis*), обитающие в различных природно-климатических условиях: 12 особей (5 самок, 7 самцов) с северной Терско-Сулакской низменности Дагестана и 8 особей (5 самок, 3 самцов) с окрестностей с. Гелинбатан и с. Ерси Табасаранского района (южные районы Дагестана). Выбор объекта исследования связан с его малой изученностью в данных условиях и относительной доступностью. Кровь у черепах брали путем прокола хвостовой вены (*Vena cossygealis superior*), которая проходит дорсовентрально к основанию хвоста. При определении кислотной устойчивости эритроцитов производили фотоэлектрическую регистрацию кинетики гемолиза эритроцитов при действии гемолитика (0,004N HCl) [5]. Осмотическую резистентность эритроцитов определяли по микроскопическому методу Яновского и использованием разных концентраций NaCl (2; 1; 0,65 и 0,45%). Полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке по методу малой выборки [4]. При определении степени различия средних арифметических двух сравниваемых вариационных рядов вычисляли показатели существенности разницы

Байрамбекова Саида Абдуллабековна, магистр. E-mail: saida.bairambekova@yandex.ru

Абдурахманова Патимат Пайзудиновна, магистр. E-mail: abdurahmanovap95@gmail.com

Магомедкамилова Раиса Иманзагидовна, магистр. E-mail: tagomedkamilova82@mail.ru

(t-критерий Стьюдента) и вероятность различий (P). При  $P < 0,05$  различие оценивается как достоверное (вероятность различия более 95%).

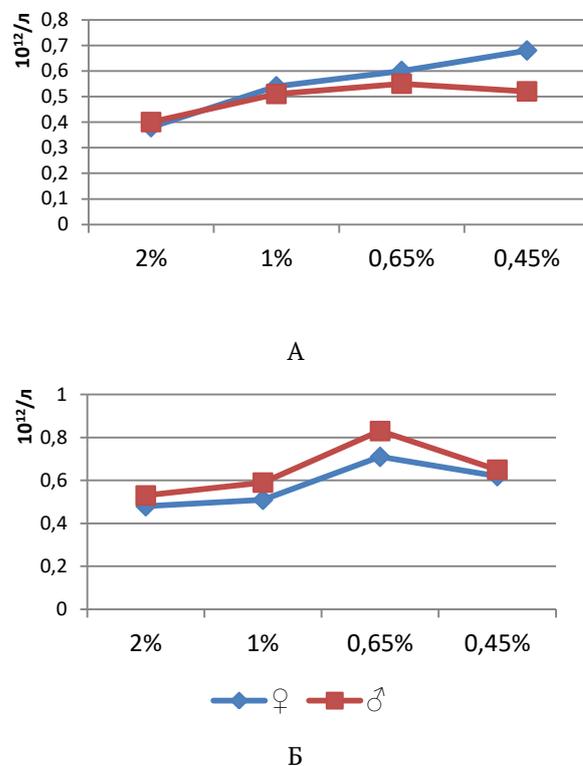
**Результаты и их обсуждение.** Для выявления качественных изменений эритроцитов нами была исследована устойчивость эритроцитов к действию убывающих концентраций NaCl (2; 1; 0,65 и 0,45%), а также HCl (0,004Н). Результаты представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1, 2. Как видно из представленных данных, при действии разных концентраций хлорида натрия наблюдаются как половые, так и территориальные различия в составе эритроцитов. Так, если у особей южной популяции устойчивость эритроцитов линейно увеличивается при убывании концентраций NaCl, достигая пика при минимальной концентрации NaCl (0,45%), то у особей, отловленных в северном районе Дагестана, максимальная устойчивость эритроцитов отмечена нами при концентрации NaCl 0,65% (физиологический раствор для холоднокровных). При сравнении количества подсчитанных эритроцитов при различных концентрациях хлорида натрия с их количеством в физиологическом растворе, можно отметить, что у особей из Табасаранского района эритроциты менее устойчивы к изменению осмолярности среды. Причем данная особенность не имеет значительных половых различий. Эритроциты болотной черепахи из Бабаюртовского района обнаруживают большую устойчивость к изменению осмолярности, о чем свидетельствует их большая концентрации в условиях действия 2%-го раствора NaCl. При этом эритроциты самцов этого района более устойчивы к действию всех исследованных концентраций соли.

**Таблица 1.** Показатели осмотической резистентности крови (в 1 мкл) Болотной черепахи (*E. Orbicularis*), обитающей в различных районах Дагестана

Пол	♀	♂
<b>Концентрация NaCl</b>		
<b>Табасаранский район</b>		
2%	0,38±0,01	0,40±0,01
1%	0,54±0,04	0,51±0,09
0,65%	0,60±0,04	0,55±0,05
0,45%	0,68±0,03	0,52±0,09
<b>Бабаюртовский район</b>		
2%	0,48±0,01	0,53±0,03
1%	0,51±0,09	0,59±0,01
0,65%	0,71±0,02	0,83±0,04
0,45%	0,62±0,04	0,65±0,07

Таким образом, существует взаимосвязь механических свойств эритроцитов, составляющих основу регуляции функционирования клетки в организме, с условиями обитания черепах. Благодаря высокоорганизованной динамической мембране эритроциты рептилий способны в физиологических условиях регулировать объем и сохранять

жизнеспособность. Высокая пластичность регуляторных механизмов позволяет клетке сохранить устойчивость в экстремальных условиях, в частности, при изменении осмолярности среды. Особенно это выражено у черепах, обитающих в северном районе Дагестана.



**Рис. 1.** Изменение осмотической резистентности эритроцитов крови особей южной (А) и северной (Б) популяции Болотной черепахи (*E. Orbicularis*).

Характеристика функциональной полноценности клеток красной крови как интегрального показателя клеточных мембран имеет важное значение. В дополнение к существующим методам подобные исследования способствуют пониманию механизмов адаптации и компенсации, возникающих в системе крови при действии экзо- и эндогенных факторов. Поэтому для оценки качественного состава эритроцитарной популяции важным представлялось изучение состояния кислотной резистентности эритроцитов периферической крови *E. Orbicularis*.

Сравнение кислотных эритрограмм в группах проводили по следующим показателям: время продолжительности гемолиза эритроцитов, пик гемолиза эритроцитов, характер эритрограммы. Из представленных результатов видно (табл. 2, рис. 2), что кислотная эритрограмма болотных черепах из различных районов существенно отличается. Продолжительность кислотной эритрограммы черепах из Табасаранского района составляет 6 мин. Эритрограмма имеет две вершины (2 и 3 мин), что указывает на неоднородность эритроцитов. Размах основания пика эритрограммы составляет 4,5 мин, вершина ее приходится на 2 и 3 мин. В этих точках

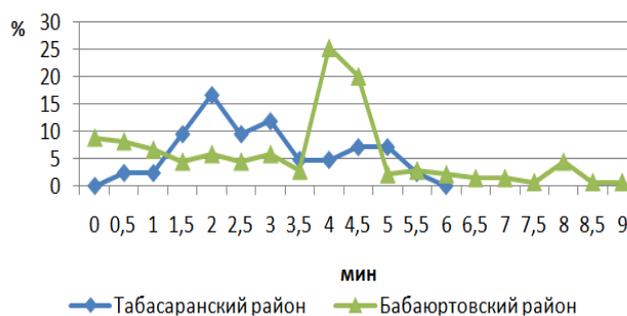
гемолизу подвергается около 16,7 и 11,0% эритроцитов соответственно. Правое крыло эритрограммы растянуто и указывает на присутствие молодых эритроцитов с высокой кислотной стойкостью. Доля эритроцитов с минимальной (в интервале до 2 мин) и средней (в интервале 2,-4,0 мин) стойкостью одинакова и составляет 31%, тогда как доля высокостойких эритроцитов составляет 16,0%.

Эритрограмма болотных черепах, обитающих в Бабаюртовском районе, заметно отличается от

эритрограммы черепах из Табасаранского района. Изменение ее связано с повышением стойкости эритроцитов к кислотному гемолизу. Это находит отражение в правом сдвиге пика эритрограммы к 4,5 мин. Продолжительность гемолиза всех эритроцитов увеличивается до 9,5 мин, что указывает на замедление этого процесса. Число высокостойких эритроцитов повышается до 62,0% (рис. 2).

**Таблица 2.** Показатели кислотной устойчивости эритроцитов крови различных популяций Болотной черепахи (*Emys Orbicularis*) Дагестана

Показатели	Южная популяция	Северная популяция
время начала гемолиза (мин)	0,5±0,07	0,5±0,04
время окончания гемолиза (мин)	6,0±0,9	9,5±1,1
пик кислотной эритрограммы (мин)	2,0±0,4 и 3,0±0,3	4,5±0,5
число гемолизованных эритроцитов на пике (%)	16,7±1,4 и 11,1±0,9	20,1±2,1
ширина основания эритрограммы	4,5±0,6	1,5±0,4
низкостойкие эритроциты (%)	31,3±2,1	28,1±1,3
среднестойкие эритроциты (%)	31,1±1,1	19,1±1,1
высокостойкие эритроциты (%)	16,0±1,0	62,2±3,2



**Рис. 2.** Кислотная устойчивость эритроцитов крови особей южной и северной популяций Болотной черепахи (*E. Orbicularis*).

Полученные данные позволяют сделать заключение о более высокой устойчивости эритроцитов крови особей северной популяции *E. Orbicularis*, по сравнению с южной, что можно рассматривать как адаптивную реакцию к условиям относительно низких температур. В южном районе в период отлова температура воды была ниже (14-15°C), чем в

южном (15-25°C). Отмеченные изменения могут быть также связаны скорее с линейно-весовыми особенностями изученных особей. Как видно из представленных данных (табл. 3), у черепах из северного линейно-весовые параметры выше, по сравнению с таковыми у черепах из южного района.

**Таблица 3.** Линейно-весовые параметры болотной черепахи, обитающей в различных районах Дагестана

Показатели	Южный район		Северный район	
	♀	♂	♀	♂
вес	174,7±19,8	217±43,8	519,0±96,5	386,2±25,4
длина	7,7±4,0	10,0±1,7	13,7±1,9	13,3±1,7
толщина	2,5±0,2	3,3±0,2	5,0±1,1	4,3±0,9
ширина	5,3±0,5	7,5±1,1	10,5±1,4	9,8±1,1

Известно, что особенностью гемопоэза рептилий является сезонность. Весной после выхода из зимней спячки наблюдается резкая вспышка

эритропоэза в костном мозге. К осени происходит его постепенное затухание, а зимой эритропоэз прекращается полностью. Возможно, более высокая

устойчивость эритроцитов у особей Бабаюртовского района связано с их более поздним выходом из спячки. Значение показателей крови болотной черепахи может определяться следующими факторами среды обитания: разностью температуры воды и воздуха в рассматриваемых районах; временем выхода из спячки: северная популяция выходит из спячки позже южной; разностью линейно-весовых параметров: у северных черепах размеры тела и масса больше, по сравнению с южными; качеством окружающей среды: в зоне интенсивного промышленного загрязнения эти показатели выше.

**Выводы:** изменение качественного состава эритроцитарной популяции может служить индикатором адаптационного потенциала рептилий, что позволяет использовать метод кислотной и осмотической резистентности эритроцитов в качестве экспресс-анализа крови при мониторинге состояния организма при адаптации к условиям обитания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Воробьева, А.С. Характеристика крови рептилий Волжского бассейна / А.С. Воробьева, С.В. Ганцук // Вопросы герпетологии: мат-лы Четвертого съезда Герпетологического общества им. А.М. Никольского (Казань, 12-17 октября 2009 г.), Санкт-Петербург: СПб: Русская коллекция, 2011. С. 66-69
2. Гассо, В.Я. Характеристика гематологичних показників крові рептилій / В.Я. Гассо, Е.Ю. Клименко // Вестник ДНУ. 2006. С. 59-63.
3. Красильников, В.Н. О возможности использования морфологических показателей клеток крови рептилий для разрешения вопросов их систематики и филогении // Вопросы герпетологии. – Л.: Наука, 1973. С. 106-107.
4. Лакин, Т.Б. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
5. Леонова, В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. – Новосибирск: Наука, 1987. С. 241.
6. Липунова, Е.А. Система красной крови: сравнительная физиология / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. – Белгород: Издательство Бел-ГУ, 2004. 120 с.
7. Липунова, Е.А. Физиология крови / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. – Белгород: Издательство Бел-ГУ, 2007. 15 с.
8. Лисничная, Е.Н. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий / Е.Н. Лисничная, В.Г. Ефимов // Научно-технічний бюллетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК, 2014. Т.2. №1. С. 120-125.
9. Ройтман, Е.В. Изменение реологических свойств крови и осмотической резистентности эритроцитов при активации свободнорадикальных процессов / Е.В. Ройтман, И.И. Дементьева, О.А. Азизова и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. № 3. С. 42-43.
10. Тарасенко, С.Н. Некоторые гематологические характеристики различных представителей герпетофауны техногенных экосистем // Вопросы герпетологии. – Киев: Наукова думка, 1989. С. 247-248.
11. Хайрутдинов, И.З. Сравнительная морфология крови двух видов рептилий / И.З. Хайрутдинов, А.В. Павлов, Ф.М. Соколова // Вопросы герпетологии. – СПб., 2008. С. 415-422.
12. Хайрутдинов, И.З. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями среды обитания // И.З. Хайрутдинов, Ф.М. Соколова – Казань: Казанский университет, 2010. 4 с.
13. Федорова, М.З. Метод комплексного исследования геометрии, площади поверхности, резервных возможностей мембраны и осморегуляции лейкоцитов крови / М.З. Фёдорова, В.Н. Левин // Клиническая лабораторная диагностика. 1997. № 11. С. 44-46.
14. Arican, H. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna / H. Arican, K. Cicek // Acta Herpetologica. 2010. Vol. 5. № 2. P. 179-198.
15. Campbell, T.W. Hematology of lower vertebrates // 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>
16. Javanbakht, H. The Morphological Characterization of the Blood Cells in the Three Species of Turtle and Tortoise in Iran / H. Javanbakht, S. Vaissi, P. Parto // Research in Zoology. 2013.No 3(1). P. 38-44.
17. Jacobson, E.R. Infectious diseases and pathology of reptiles. – CRC Press, 2007. P.167-186.
18. Sevinç, M. The morphology and size of blood cells of *Lacerta rudis bithynica* (Squamata, Reptilia), Turkey / M. Sevinç, I.H. Ugurtas // Asiatic Herpetol. 2001. Res. 9. P. 122-129.

#### THE BLOOD ERYTHROCYTES ACID AND OSMOTIC STEADINESS OF MARSH TURTLE (*EMYS ORBICULARIS*) VARIOUS POPULATIONS IN DAGESTAN

© 2017 S.A. Bayrambekova, P.P. Abdurakhmanova, R.I. Magomedkamilova

Dagestan State University

Results of research the acid and osmotic steadiness of blood erythrocytes of Marsh turtle (*Emys orbicularis*) species, living in various climatic conditions are presented in article. The received results testify the qualitative differences of erythrocytes structure of *E. Orbicularis* from various populations in Dagestan which are expressed in different intensity and general duration of acid hemolysis of erythrocytes, and also in various ratio of low- and high-resistant erythrocytes. Authors bind prevalence in northern population of *E. Orbicularis* of erythrocytes with high acid and osmotic resistance to adaptive changes of physiological indicators of red blood cells in the conditions of more severe climate.

Key words: *marsh turtle, erythrocytes, acid steadiness, sodium chloride, adaptation*

Saida Bayrambekova, Master. E-mail: [saida.bairambekova@yandex.ru](mailto:saida.bairambekova@yandex.ru); Patimat Abdurakhmanova, Master. E-mail: [abdurahmanovap95@gmail.com](mailto:abdurahmanovap95@gmail.com); Raisa Magomedkamilova, Master. E-mail: [magomedkamilova82@mail.ru](mailto:magomedkamilova82@mail.ru)