

УДК 599.745.3:591.111.1

Возрастные особенности клеточного состава крови тюленей*Н. Н. Кавцевич, Т. В. Минзюк*

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН (ФГБУН «ММБИ КНЦ РАН»),
г. Мурманск
E-mail: kavtsevitch2015@yandex.ru

Представлены результаты морфологического и цитохимического исследования крови щенков серых и гренландских тюленей и тюленей-хохлачей различного возраста. Кроме исследования мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, использовали выявление белков районов организаторов ядрышка при помощи азотнокислого серебра (ЯОРАg). Число и размеры ЯОРАg — параметры, характеризующие синтетическую активность ядрышек при подготовке клеток к делению. У серого тюленя и хохлача наибольшие изменения клеточного состава крови происходят после завершения молочного вскармливания. Пролиферативная активность лимфоидных клеток серых тюленей наиболее высока в возрасте до 1,5 месяцев, у тюленей 3–4-х месяцев, самостоятельно кормящихся рыбой, она снижается. У тюленей исследованных видов выявлены периоды «физиологического перекреста» лейкоцитарной формулы крови (уравнивание числа лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов), обусловленные интенсивной пролиферацией лимфоидных клеток. У гренландских тюленей это явление наблюдается во время молочного вскармливания в возрасте 1–2 недель, у серых тюленей и хохлачей — после завершения молочного питания и ювильной линьки в возрасте 1–1,5 месяца. Высокие число и размеры ЯОРАg в лимфоцитах свидетельствуют об активном формировании кровяной системы щенков тюленей в данные периоды онтогенеза. У всех изученных детенышей тюленей присутствуют низкодифференцированные клетки — метамиелоциты и предшественники эритроцитов, содержащие ядро. Особенностью клеточного состава крови взрослых гренландских тюленей и щенков 3,5–4-месячного возраста, мигрировавших в юго-западную часть Белого моря, является высокое число эозинофилов. Обсуждаются возможные причины выявленных особенностей состава крови.

Ключевые слова: морские млекопитающие, тюлени, гематология, клетки крови.

ВВЕДЕНИЕ

Оценка физиологического состояния детенышей тюленей является актуальной задачей при определении перспектив развития популяций. Точное знание морфологии и соотношения клеток крови с различными морфофункциональными свойствами необходимо для диагностики и прогноза состояния различных органов и тканей, кровяной системы, в вы-

сокой степени подверженной повреждающему воздействию физических и химических факторов. В то же время сведения о морфологических особенностях и функциональных свойствах клеток крови лаастоногих отрывочны. Они получены при исследовании небольших групп животных, как правило, содержащихся в неволе [Ronald et al., 1969; Geraci, 1971; Engelhardt, 1979].

Серый тюлень (*Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791)), обитающий в прибрежной зоне Баренцева моря, является одним из редких и малоизученных видов ластоногих России. В Мурманской области, где его промысел был запрещен в 1958 г., вид подлежит полной охране [Кавцевич, Ерохина, 2014].

Восточно-атлантическая популяция, к которой относятся серые тюлени, обитающие в Баренцевом море, самая многочисленная и занимает наибольший ареал, который включает побережье Бретани, Исландию, Ирландию, Фарерские и Британские острова, побережье Норвегии и Кольского полуострова. Наряду с исландскими и норвежскими колониями серых тюленей мурманские являются наименее изученными.

Гренландский тюлень (*Pagophilus groenlandicus* (Erxleben, 1777)) — самый многочисленный вид настоящих тюленей не только в Арктике, но и в Северном полушарии. Интенсивный его промысел в течение многих лет ведут Канада, Норвегия и Россия. Эксплуатируются все три популяции: ньюфаундлендская, ян-майенская и беломорская.

Товарный промысел гренландского тюленя в Белом море известен с XII века, но только в 1930-е годы он стал существенно влиять на численность популяции. В 1928 году беломорское стадо насчитывало 3,0–3,5 млн голов, а в 1937 году — 600–700 тысяч. После вынужденного прекращения промысла Норвегией и снижения его в СССР в 1941–45 гг. беломорская популяция выросла до 1,2 млн особей в 1948 году, но затем к 1968 году снова сократилась до 240 тысяч. Благодаря ограничению добычи в 1976 г. гренландских тюленей беломорской популяции было уже 551 тыс. [Назаренко, 1984].

Съёмки, выполненные в 2000 г., показали, что численность приплода остаётся на уровне 320–330 тыс. шт. Однако уже в 2009 г. результаты учёта приплода оказались значительно скромнее — 157 тыс. Общая численность популяции оценивалась в 2000 г. в 1,8–2 млн особей, а в 2009 в 1 млн [Potelov et al., 2003; Naug, Øigård, 2009]. В 2013 году приплод составил 129 ± 31 тыс., а численность популяции — 1034–1249 тыс. особей [Шафиков, 2015].

Если в 1930–60-е гг. главной причиной, повлиявшей на состояние беломорской популяции гренландских тюленей, был зверобойный промысел, то в настоящее время — оскудение запасов сайки и мойвы. В структуре популяции происходят неблагоприятные изменения: на линных залежках стало значительно меньше молодых щенящихся самок и тюленей в возрасте 1–6 лет (6,9% в 1987 г. против 65,1% в 1970 г.), что сказывается на качестве потомства. Изменения возрастного состава стада связаны с высокой смертностью щенков в первый год жизни [Тимошенко, 1998]. Среди животных, ослабленных недокормом, на фоне действия других факторов (загрязнение моря, сейсмические взрывы при геолого-разведочных работах) вполне реально распространение эпизоотий. Поэтому целесообразно проведение исследований, направленных на определение адаптационных возможностей как отдельных особей, так и внутривидовых групп гренландских тюленей.

Хохлач (*Cystophora cristata* (Erxleben, 1777)) — редкий в российских водах вид ластоногих, в Гренландском море является промысловым видом. Известны два основных района размножения хохлачей: северо-восточнее Ньюфаундленда (Канада) и севернее острова Ян-Майен (Гренландское море, Норвегия). Хохлачам свойствен ряд особенностей, отличающих их от настоящих тюленей других видов. К ним относятся: ювенильная линька во время внутриутробного развития, более короткий период лактации, раннее половое созревание — самки хохлача становятся половозрелыми в 2 года [Атлас..., 1980]. Это позволяет также ожидать более быстрого постнатального развития у этих тюленей различных систем организма, включая систему кроветворения. Имеющиеся в литературе материалы по исследованию крови хохлача немногочисленны, получены, как правило, на ценных залежках [Boily et al, 2006; Burns et al, 2007]. Единичные работы проведены также в условиях неволи [Cabanac, 2000].

Кроветворная система позвоночных развивается по общему плану, хотя относительная роль разных источников камбиальных клеток и сроки заселения и развития органов кроветворения сильно варьируют [Горышина, Чага,

1990]. Общие закономерности постнатального развития организма наземных млекопитающих свойственны и морским млекопитающим. Однако их проявление у этих животных может иметь существенные особенности. В частности, периоды онтогенеза, в течение которых происходят интенсивная пролиферация и дифференцировка кроветворных клеток, формирование системы крови у наземных и морских млекопитающих могут значительно различаться.

В настоящей работе мы определяли клеточный состав крови серых и гренландских тюленей и тюленей-хохлачей разного возраста по морфологическим и некоторым цитохимическим признакам.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для исследования получен: от серых тюленей на шенных залежках (о. Большой Айнов, Баренцево море) и в аквариальном комплексе ММБИ; от гренландских тюленей — на зверобойном промысле в пос. Койда Архангельской обл. и пос. Чапома Мурманской обл.; от хохлача — во время зверобойного промысла в Гренландском море от 13 щенков (8 самцов и 5 самок) в возрасте 1–1,5 месяцев. Кровь брали из внутрипозвоночной (экстрадуральной) вены [Geraci, Smith, 1975], на промысле — из правого желудочка сердца в шприц с гепарином.

Мазки крови изготавливали общепринятым способом, окрашивали по Романовскому-Гимза. Выявляли также районы организаторов ядрышка при окрашивании нитратом серебра (ЯОРАg) [Howell, Black, 1980]. Препараты изучали, используя масляную иммерсию (объектив $\times 100$, окуляр $\times 10$). Количествен-

ные параметры клеток определяли при помощи видеосистемы и программного обеспечения Axio Vision 4.5 фирмы Zeiss. Для оценки активности организаторов ядрышка подсчитывали число ЯОРАg в одном лимфоците и определяли отношение площади ядрышкообразующего района к площади ядра лимфоцита (СЯОР/СЯ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принадлежность лейкоцитов тюленей к одному из известных их типов, как правило, не вызывает сомнений. Исключение составляют клетки с сегментированным ядром и розовыми цитоплазматическими гранулами неправильной формы с размытыми границами (рис. 1).

Подобные лейкоциты выявлены у ламантинов [Bossart et al., 2001] и собак [Риган и др., 2000]. Их число у обследованных серых тюленей составляет 0–2,5% от всех гранулоцитов. Положительная реакция на миелопероксидазу позволяет отнести эти клетки к нейтрофильным гранулоцитам.

Другой заметной особенностью клеточного состава крови серых тюленей является наличие гигантских тромбоцитов (рис. 2). При повышении потребностей в тромбоцитах костный мозг начинает вырабатывать тромбоциты больших размеров. Поэтому логично было бы связать это явление у тюленей с процедурой взятия крови, однако у других исследованных видов морских млекопитающих подобные гигантские формы не обнаружены. Гигантские или макротромбоциты — обычный компонент крови кошек, вне зависимости от состояния животных [Риган и др., 2000]. Не исключено, что продуцирование макротромбоцитов явля-

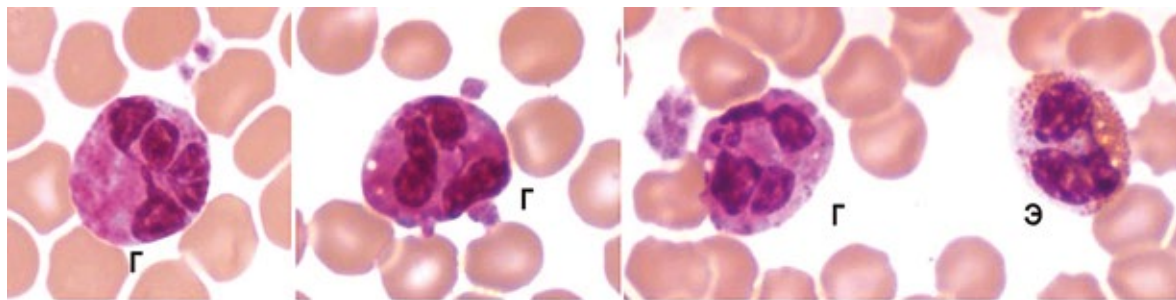


Рис. 1. Гетерофильные лейкоциты щенков серого тюленя:

г — гетерофилы; э — эозинофил

ется видовой либо возрастной особенностью кроветворения серого тюленя.

Среди нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов встречаются клетки с ядрами необычной формы (рис. 3 в): отдельные сегменты соединены друг с другом нитями хроматина, сходящимися в одной точке, а не последовательно, как у изученных в данном отношении млекопитающих [Никитин, 1956; Кудрявцев и др., 1969; Риган и др., 2000]. Такие лейкоциты мы обнаружили также у гренландских тюленей, тюленей-хохлачей и морских зайцев. По-видимому, это является одной из особенностей дифференцировки клеток миелоидного ростка кроветворения тюленей. Размеры и число гранул эозинофилов щенков серых тюленей (рис. 3 г) меньше, чем у представителей китообразных (афалина, белуха, обыкновенная морская свинья), изучавшихся нами ранее [Кавцевич, 2011].

Кровь новорожденных серых тюленей содержит «юные» нейтрофилы, метамиелоциты (рис. 3 г). У питающихся молоком и завершивших молочное вскармливание щенков эти клетки более редки, а у кормящихся рыбой не выявлены. Базофильные лейкоциты — наиме-

нее постоянная часть лейкоцитарной формулы крови. Их число колеблется от 0 до 1,5%, что согласуется с результатами, ранее полученными для тюленей других видов [Engelhardt, 1979]. Кроме отсутствия метамиелоцитов у питающихся рыбой тюленей, они отличаются наиболее низким содержанием палочкоядерных, т.е. не вполне дифференцированных нейтрофилов, а также, наряду с закончившими молочное питание щенками, более высоким, чем остальные тюлени, содержанием эозинофилов. Последнее, вероятно, является следствием аллергизации веществами, поступившими из воздуха и пищи.

Большинство лимфоидных клеток крови серых тюленей — малые лимфоциты, но у всех щенков в значительном количестве (5–10% от числа лимфоцитов) встречаются и большие лимфоциты с признаками активированных клеток (сильно базофильная цитоплазма, светлое ядро) (рис. 3 д). Часть моноцитов с лопастевидным ядром (рис. 3 б) также имеют сильно базофильную цитоплазму, что отражает высокую интенсивность синтетических процессов в рибосомах этих клеток.

Выявлены лимфоциты, содержащие в цитоплазме азурофильные гранулы, «большие

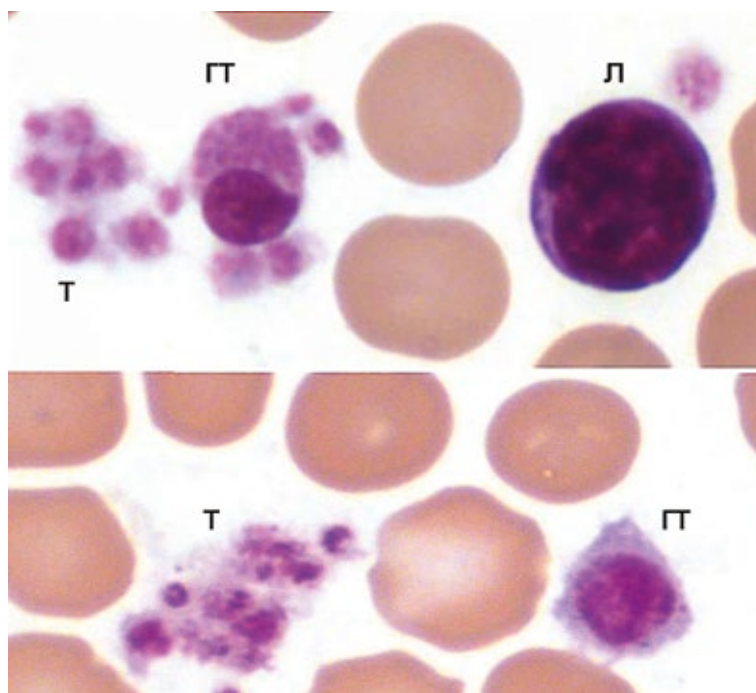


Рис. 2. Гигантские тромбоциты серых тюленей:
ГТ — гигантские тромбоциты, Т — тромбоциты, Л — лимфоцит

гранулярные лимфоциты». Доля этих клеток от числа лимфоцитов составила $1,19 \pm 0,42\%$ у новорожденных; $1,56 \pm 0,45\%$ — у бельков; $2,43 \pm 0,85\%$ — у серок и $1,03 \pm 0,42\%$ — у щенков, начавших самостоятельно питаться рыбой. Различия между группами низкодостоверны ($p > 0,05$) из-за высокого уровня вариабельности данного показателя. Последнее можно рассматривать как дополнительное свидетельство нестабильного состояния развивающейся лимфоидной системы щенков тюленей. У новорожденных, кормящихся молоком и завершивших молочное вскармливание тюленей встречаются также предшественники эритроцитов, содержащие ядро, — нормоциты и даже пронормоциты (рис. 3 е-и).

Определение лейкоцитарной формулы крови щенков серых тюленей различных возрастных групп позволило выявить существенные

различия между ними. Заслуживает внимания величина соотношения числа нейтрофилов (С) и лимфоцитов (Л) в третьей группе животных (табл. 1).

К возрастным особенностям состава крови наземных млекопитающих относится уравнивание в определенные периоды количества лимфоцитов и нейтрофилов, «физиологический перекрест». У человека это явление отмечается на 4-е сутки после рождения и в 4 года [Бобова и др., 2003]. Позднее окончательно устанавливается нейтрофильный профиль крови.

У лошадей с их нейтрофильным профилем крови у взрослых особей также известны 2 периода сближения числа нейтрофилов и лимфоцитов — в первые дни после рождения и в более позднем возрасте. В картине крови крупного рогатого скота, а также у свиней и кроликов второй «перекрест» не выявлен,

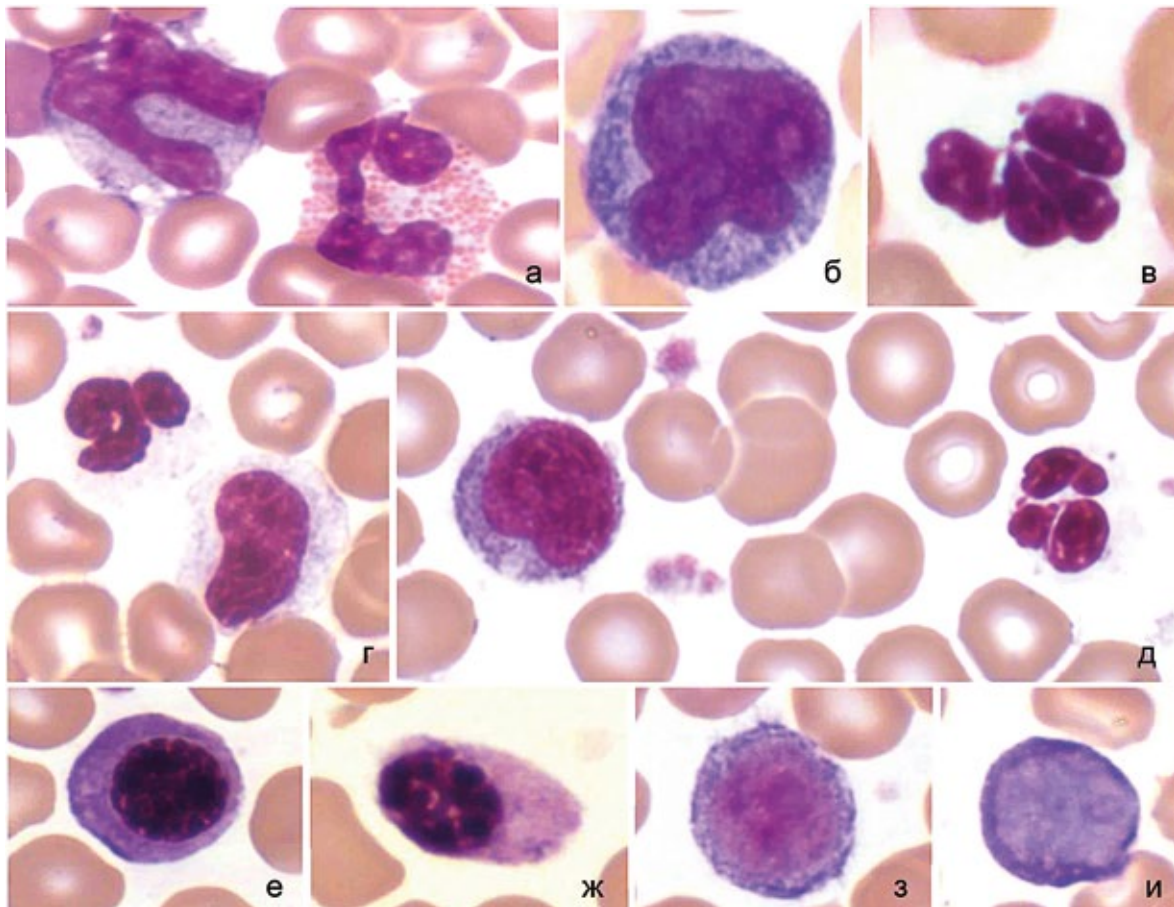


Рис. 3. Лейкоциты и предшественники эритроцитов щенков серых тюленей:

а — моноцит и эозинофил; б — моноцит; в — нейтрофил; г — нейтрофил и метамиелоцит; д — большой лимфоцит и нейтрофил; е, ж — базофильный и полихроматофильный нормоциты; з, и — пронормоциты

хотя у старых коров количество нейтрофилов становится близким к количеству лимфоцитов [Любин, Конова, 2005].

Число и размеры окрашенных серебром районов организаторов ядрышка (ЯОРАg) — видоспецифичные признаки. Они изменяются при нарушениях в соответствующих участках генома и патологических состояниях [Maug et al., 1983]. Солями серебра окрашиваются белки, принимающие участие в процессах биосинтеза и созревания пре-рРНК [Crocker, 1990]. Интенсивность окрашивания районов организаторов ядрышка отражает таким образом потенциальные возможности клеток синтезировать белки при повышении их функциональной активности и подготовке к митозу.

В лимфоцитах щенков серых тюленей — от 1 до 4 ЯОРАg. Однако во всех исследуемых группах животных преобладают клетки с одним ЯОРАg. Среднее число ЯОРАg в одном лимфоците у тюленей, кормящихся рыбой (табл. 2), достоверно отличается от остальных ($p = 0,001-0,05$). У гренландских тюленей с возрастом уровень данного показателя также снижается, стабилизируясь, вероятно, к периоду полового созревания [Кавцевич, Юрко, 2007].

Гистограммы распределения лимфоцитов по величине СЯОРАg/СЯ тюленей разных возрастных групп заметно различаются по форме, частоте модальных классов (рис. 4). Это подтверждает и сопоставление их статистиче-

ских параметров (табл. 2). По средней величине СЯОРАg/СЯ различия между группами животных также достоверны ($p < 0,01$). В наибольшей степени выражены отличия тюленей 4-й группы от остальных. Кроме того, в первых 3 группах тюленей показатель эксцесса, т.е. «крутизна» распределения, ниже, чем в 4-й, что может быть обусловлено существованием в организме множества субпопуляций лимфоцитов, значительно различающихся по активности организаторов ядрышка.

По-видимому, в первые недели жизни тюленей воздействие антигенов внешней среды (а также внутренних факторов, в частности, гормонов) на кроветворную и иммунную системы наиболее значительно — у бельков (детёнышей, кормящихся молоком) активность ядрышек лимфоцитов выше, чем у остальных. Степень влияния упомянутых факторов на организм животных 4-й группы, вероятно, снижается. Это проявляется в падении уровня активности организаторов ядрышка лимфоидных клеток, сближении их по размерам районов организаторов ядрышек.

Таким образом, после рождения, в течение лактации и затем после завершения молочного вскармливания, во время ювенильной линьки, происходят значительные изменения лейкоцитарного состава крови детёнышей серых тюленей. Представленные данные свидетельствуют, что у щенков серого тюленя становление клеточного иммунитета наиболее интенсивно

Таблица 1. Лейкоцитарная формула крови серых тюленей ($M \pm m$)

№ п/п	Группы тюленей	Типы лейкоцитов, %						
		Ю	П	С	Э	Б	М	Л
1.	Новорожденные, n = 8	0,8±0,3	3,8±0,6	63,7±2,8	1,7±0,2	0,6±0,2	6,1±1,3	23,3±2,2
2.	Бельки, 2–3 нед., n = 12	0,5±0,3	2,4±0,5	62,9±1,7	2,4±0,4	0,4±0,2	7,5±0,6	23,9±2,1
3.	Серки, 1–1,5 мес., n = 8	0,2±0,1	1,6±0,3	43,3±4,7	6,3±2,8	0,5±0,2	5,5±0,7	42,6±5,1
4.	Кормящиеся рыбой, 3–4 мес., n = 6	0	0,6±0,2	58,7±2,1	6,2±1,6	0	6,4±1,2	28,1±2,4
5.	Кормящиеся рыбой, 1 год, n = 4	0	1,4±0,6	60,3±4,1	3,1±0,7	0,1±0,1	1,4±0,7	33,7±4,7
6.	Кормящиеся рыбой, 3,5 года, n = 2	0,8±0,8	1,3±0,3	54,4 ±6,0	7,0±0,1	0,8±0,8	1,5±1,0	34,2±7,3

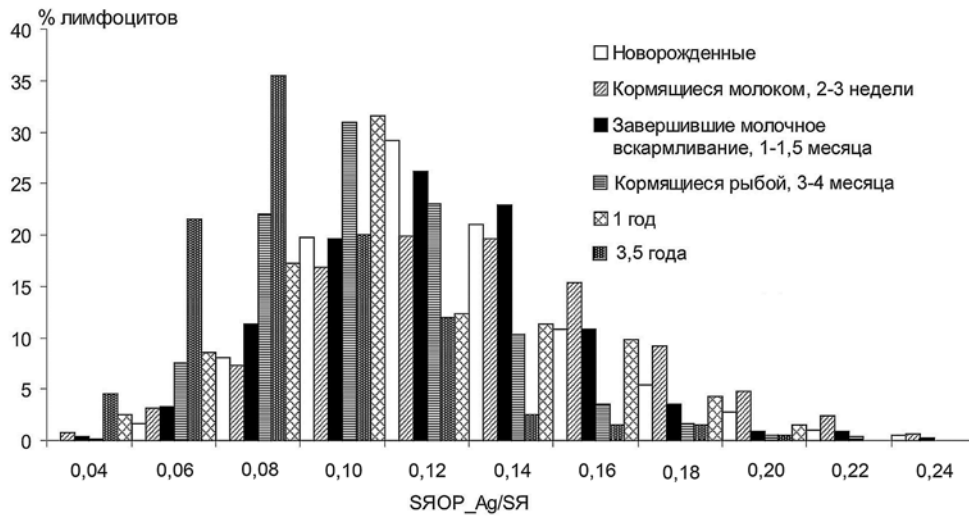


Рис. 4. Распределения лимфоцитов серых тюленей по относительной площади окрашенных серебром районов организаторов ядрышка

Таблица 2. Статистические параметры распределений лимфоцитов серых тюленей по величине отношения площади ЯОРАg к площади ядра

Группы тюленей	M±m	As	Ex	C.V., %
1	0,127±0,001	0,707	0,887	24,7
2	0,134±0,001	0,275	0,001	28,1
3	0,122±0,001	0,351	0,404	25,2
4	0,104±0,001	0,723	1,043	25,9
5	0,099±0,002	0,447	0,166	33,9
6	0,088±0,002	1,064	1,875	32,1

Примечание. M±m — средняя±ошибка средней; As — показатель асимметрии; Ex — показатель эксцесса; C.V. — коэффициент вариации.

происходит в первые 1,5 месяца жизни. В возрасте 3–4-х месяцев, когда животные начинают самостоятельно питаться рыбой, процессы пролиферации и дифференцировки лимфоидных клеток, осуществляющих реакции специфического иммунитета, замедляются.

В мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, у гренландских тюленей, как и у многих видов наземных млекопитающих [Кудрявцев и др., 1969], включая представителей отряда хищных, филогенетически наиболее близких к настоящим тюленям, численно преобладают нейтрофилы. Большинство нейтрофилов имеют сегментированные (3–8 сегментов) или палочковидные ядра. Палочкоядерные нейтрофилы наблюдаются у тюленей

разного возраста. Кровь большинства (87%) щенков содержит «юные» нейтрофилы, метамиелоциты. У взрослых животных такие клетки мы обнаружили только в двух случаях из десяти (по 0,5%), у 3,5–4-месячных серок — также только в двух случаях (1 и 0,5%). В крови серок 1–1,5-месячного возраста, заморышей и бельков доля юных нейтрофилов составила: 1,1±0,1, 1,9±0,4 и 2,6±0,3% от числа нейтрофилов, соответственно, при диапазоне колебаний 0–18%. Различие между первыми и последними статистически достоверно (p < 0,01). По данным же К. Рональда и соавторов [Ronald et al., 1969] низкодифференцированные гранулоциты у щенков гренландских тюленей появляются в заметном

количестве (2–10%) лишь после трёх месяцев неволи. Особенностью клеточного состава крови щенков является также значительное число больших лимфоцитов. После рождения состав крови детёнышей наземных млекопитающих претерпевает существенные изменения, связанные со становлением костно-мозгового кроветворения. В первые дни и недели жизни в крови присутствуют низкокодифференцированные лейкоциты. Это, в частности, метамиелоциты, предшественники дифференцированных гранулоцитов, и даже миелоциты — клетки, способные к пролиферации в кроветворных органах. У одномесячных новорожденных человека метамиелоциты не выявляются [Гематология..., 1998], хотя «биологический возраст» людей в этот период онтогенеза меньше, чем детёнышей тюленей. Тюлени 1–1,5 месяцев уже завершили молочное вскармливание и приступают к самостоятельному питанию,

в то время как у человека лактация только начинается.

Данные о соотношении различных типов лейкоцитов щенков и взрослых гренландских тюленей представлены в таблице 3. Как следует из таблицы 3 в 1987–1992 гг. нормальные щенки-серки, серки-заморыши и взрослые животные не различаются по большинству средних значений показателей лейкоцитарной формулы крови. Исключение составляет число базофилов, более высокое у щенков в 1987 и 1991 гг., и повышенный по сравнению со щенками процент эозинофилов у взрослых тюленей при сниженном количестве моноцитов. Различия между самцами и самками по всем параметрам лейкоцитарной формулы статистически незначительны ($p > 0,05$). Такой результат обусловлен значительной вариабельностью содержания лейкоцитов различных типов. Наименьшая же она у нейтрофилов. Ха-

Таблица 3. Лейкоцитарная формула крови гренландских тюленей (M±m), %

Группа тюленей	Н	Э	Б	М	Л
1987 г.					
Серки, n = 12	68,5±3,2	3,5±0,4	1,0±0,3	9,6±0,8	17,4±2,5
1989 г.					
Серки, n = 10	65,2±4,4	4,1±1,5	0	5,3±1,0	25,4±4,1
1990 г.					
Серки, n = 11	63,6±2,3	2,0±0,3	0,3±0,2	4,5±0,8	29,6±2,9
1991 г.					
Серки, n = 65	64,2±1,2	1,8±0,2	2,2±0,3	7,8±0,5	24,0±1,2
Серки-заморыши, n = 21	64,8±2,6	1,5±0,4	2,4±0,6	8,6±0,9	22,7±2,5
1992 г.					
Серки, n = 10	60,8±5,8	1,6±0,6	0,2±0,1	9,0±0,1	28,4±6,6
Серки-заморыши, n = 10	61,3±4,0	2,0±0,4	0,2±0,1	10,1±1,1	26,4±4,4
Взрослые, n = 10	53,8±3,6	19,3±2,6	0,1±0,1	2,7±0,4	24,1±4,2
1994 г.					
Серки, n = 14	81,0±1,5	1,2±0,4	0,1±0,1	8,1±1,2	9,6±1,1
Серки-заморыши, n = 16	80,0±2,7	0,4±0,2	0,3±0,1	9,8±1,7	9,5±2,1
Хохлуши-заморыши, n = 11	81,4±7,4	0,6±0,3	0,2±0,1	10,6±1,6	7,2±2,2
1998 г.					
Бельки, n = 20	41,4±3,2	3,0±0,5	0,7±0,2	8,0±1,1	46,9±2,7
1999 г.					
Бельки, n = 45	40,7±3,0	1,7±0,3	0,7±0,2	4,6±0,8	52,3±2,8

Примечание. Н — нейтрофилы, Э — эозинофилы, Б — базофилы, М — моноциты, Л — лимфоциты.

рактерно также, что распределение тюленей по этому показателю не отличается от нормально-го, гауссова ($P = 0,99$), как в каждой из групп животных, так и в группе в целом.

Щенки 1994 года рождения имеют более низкое, чем детеныши предыдущих лет, относительное число лимфоцитов. У заморышей и заморышей-хохлуш снижено также число эозинофилов. Такие же сдвиги в лейкоцитарной формуле крови наблюдались у северных морских котиков при адаптации к неволе [Занина, Занин, 1990] и сивучей при 20-дневном голодании. Мы не исключаем, что одной из причин этих различий может быть то, что от времени окончания молочного вскармливания до взятия крови у различных особей в разные годы прошло неодинаковое время. Однако отмеченную особенность формулы крови имеют как серки, нормально перелинявшие и нормально упитанные, так и серки-заморыши, и заморыши-хохлуши. Кроме того, в отличие от ушастых, у настоящих тюленей период голодания во время ювенильной линьки и некоторое время после неё является естественным. В 1991–1993 годах у щенков гренландских тюленей обнаружено ежегодное увеличение степени носительства микобактерий, представляющих потенциальную угрозу здоровью тюленей [Соколов и др., 1994]. Состояние здоровья потомства зависит и от возраста самок, участвовавших в размножении, число молодых среди которых в 1980-е годы снизилось и продолжает падать [Тимошенко, 1998]. Различия по средним значениям показателей лейкоцитарной формулы крови могут быть следствием воздействия любого из упомянутых факторов либо результатом их суммарного влияния.

Бельки гренландского тюленя имеют более высокое, чем остальные тюлени, относительное число лимфоцитов. Причём, это относится к животным как 1998, так и 1999 года рождения. Такая особенность состава крови, наиболее вероятно, обусловлена активной пролиферацией лимфоцитов, связанной с развитием иммунной системы новорожденных. Об этом, в частности, свидетельствует повышенная активность организаторов ядрышка, являющаяся обобщенным показателем потенциальных возможностей клеток синтезировать белки. Среднее число ЯОРАг составило: бельки

1 нед. — $1,53 \pm 0,03$; заморыши 1–1,5 мес. — $1,30 \pm 0,03$; серки 1–1,5 мес. — $1,25 \pm 0,02$; серки 3,5–4 мес. — $1,21 \pm 0,03$; взрослые — $1,17 \pm 0,06$.

Уровень эозинофилов, выявленный нами у взрослых гренландских тюленей, оказался необычно высоким (6,5–36,0%) по сравнению с данными литературы для ластиногих различных видов и наземных млекопитающих. Считается, что в крови тюленей, как настоящих, так и ушастых, содержание этих лейкоцитов невелико — от нуля до нескольких процентов [Ridgway, 1972; Engelhardt, 1979]. Эозинофилия — особенность состава крови китообразных. Наиболее вероятной причиной её возникновения считают паразитарные инвазии [Ridgway, 1972]. Однако гельминтозы чрезвычайно распространены и среди ластиногих [Murmman et al., 1984]. Повышение же количества эозинофилов в периферической крови наблюдается при аллергических реакциях различного происхождения. Роль аллергенов могут играть и вещества, выделяемые гельминтами, и различные другие ксенобиотики. При стрессе число эозинофилов, наоборот, падает [Андреев, 1979]. Этим можно объяснить различия в клеточном составе крови между взрослыми тюленями, застреленными на промысле и погибавшими мгновенно, и щенками, которых удерживали при взятии крови в течение нескольких минут, что достаточно для начала стресс-реакции. Так, у застреленных кольчатых нерп процент эозинофилов был в 2 раза выше, чем у живых, удерживаемых сетью [Geracy, Smith, 1975]. Стрессорный эффект удерживания животных во время взятия крови снижается при регулярном его повторении: уровень эозинофилов у гренландских тюленей в первые 6 мес. пребывания в океанариуме составлял 1–2%, а в последующий период (1,5 года) достигал 10% [Ronald et al., 1969]. По-видимому, низкое число эозинофилов, обычно выявляемое у тюленей, является во многих случаях результатом стресса при взятии крови.

Особую, хоть и немногочисленную, группу составили гренландские тюлени-сеголетки, мигрировавшие в Кандалакшский залив Белого моря, а не в северную часть Баренцева моря, к кромке льдов, основной район кормления

гренландских тюленей. Детеныши гренландских тюленей, совершающие миграции не в Баренцево, а в Белое море, где весной нет достаточного для них количества корма, погибают. Значения показателей общего анализа крови у них выходили за пределы, установленные Ф. Энгельгардтом [Engelhardt, 1979] и нами [Кавцевич, Ерохина, 1996] для трёхмесячных гренландских тюленей, содержащихся в океанариуме. Особенно существенным обстоятельством, на наш взгляд, является повышенное число эозинофильных лейкоцитов (табл. 4).

Предположение об инвазии как причине эозинофилии не подтвердилось — после применения антигельминтных препаратов гельминты или их яйца в выделениях тюленей обнаружены не были. Детеныши млекопитающих, переходя после молочного вскармливания на самостоятельное питание, неизбежно получают с пищей (в качестве пищи) вещества, с которыми они ранее не контактировали, и реагируют на них как на аллергены. Вероятно, щенки тюленей не являются исключением из этого правила. Однако не ясно, нормальны ли отмеченные гематологические особенности для начинающих питаться морскими организмами детенышей тюленей, либо они — следствие того, что переход к самостоятельному питанию был неравномерным из-за отсутствия в Белом море весной достаточного количества корма.

ЯОР лимфоцитов гренландских тюленей округлые или овальные, реже имеют вид кольца, подковы, чётков. В клетке их 1–4. Преобладают лимфоциты с одним активным организатором ядрышка (74,0±1,5% — у серок; 84,3±2,0% — у взрослых). Среднее число ЯОР в 1 лимфоците у различных особей составляет 1,04–1,46 (щенки), 1,08–1,26 (взрослые). Диаметр ЯОР значительно варьирует: от 0,2 до 3,0 мкм (в больших лимфоцитах). Число лимфоцитов, имеющих более одного активного организатора ядрышка, у «заморышей» выше, чем у нормальных щенков (30,2% и 24,9%, соответственно, сравнение по критерию хи-квадрат, $p < 0,01$).

Определению активности организаторов ядрышек как важнейшей части генома уделяется много внимания в клинике заболеваний системы крови, в особенности онкологических. Отмечается высокая диагностическая и прогностическая ценность метода и наряду с этим отсутствие универсальных критериев оценки активности организаторов ядрышка. Различные авторы используют для этой цели определение числа ЯОР, их площади, диаметра, формы.

По среднему диаметру ЯОРАg в одном лимфоците нормальные серки и заморыши различаются (1,34±0,12 мкм против 1,69±0,07 мкм, $p < 0,05$). Характерно, что вариабельность этого показателя у «заморышей» в 2 раза ниже, чем у нормальных щенков (коэффициенты вариации 18,8% и 41,1%, соответственно).

Возрастные изменения средних размеров районов организаторов ядрышка у гренландских тюленей

Таблица 4. Гематологические показатели щенков гренландского тюленя, мигрировавших в Кандалакшский залив Белого моря

№ п/п	СОЭ	L	E	Hb	Лейкоцитарная формула крови					
					Ю	П	С	Э	М	Л
1	3	9,8	2,9	218	0	0,5	51,0	7	11	30,5
2	9	12,8	2,8	164	0	1,5	29,0	40	9,5	20
3	5	6,2	5,5	236	0	0,5	66,5	4	10	19
4	1	2,8	2,7	216	0	5,0	56,5	9,5	10	19
5	5	3,6	6,3	212	1,0	6,0	47,5	20	3	22,5
6	7	4,6	4,5	260	0,5	2,5	44,0	19	12	22
M±m	5,0±1,2	6,6±1,6	4,1±0,6	217±13	0,3±0,2	2,7±1,0	49,1±5,1	16,6±5,4	9,2±1,3	22,1±1,8

Примечание. СОЭ — скорость оседания эритроцитов (мм/час); L — число лейкоцитов (тыс./мкл); E — число эритроцитов (млн/мкл); Hb — концентрация гемоглобина (г/л); Н, Э, Б, М, Л, Н, Э — относительное число (%) нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов, лимфоцитов, соответственно.

Таблица 5. Статистические параметры распределений лимфоцитов гренландских тюленей по относительной площади ЯОРAg

Группы тюленей	M± m	As	Ex	S.V., %
Бельки, 1нед., n = 14	0,086±0,001	0,760	0,573	36,4
Серки, 1–1,5мес, n = 11e	0,095±0,001	0,645	0,341	31,6
Серки-заморыши, 1,5 мес., n = 11	0,093±0,001	0,617	0,806	29,6
Серки-мигранты, 3–4 мес., n = 6	0,104±0,001	0,456	0,516	37,5
Взрослые, n = 10	0,082±0,001	0,718	1,629	36,3

ских тюленей менее значительны, чем у серых (табл. 5).

Однако распределения лимфоцитов по этому показателю существенно различаются (рис. 5). Наибольшую площадь ЯОРAg имеют щенки-мигранты. Это можно объяснить низким потреблением корма, поскольку весной его в Белом море для тюленей недостаточно и животные подходят к берегу, чтобы получить пищу от людей. Во время голодания тюленей белки являются одним из источников получения энергии [Nordøy, Blix, 1991], и их интенсивная утилизация в этом качестве, по-видимому, приводит к повышению активности системы синтеза белка.

При визуальном исследовании описаны особенности распределения лимфоцитов крови по числу, размерам и форме ЯОР у наземных животных [Maug et al., 1983]. Точная и объ-

ективная оценка площади ЯОР хромосом метафазных клеток на сканирующем микроскопе [Амосова и др., 1986] позволила найти индивидуальные различия. Мы исследовали лимфоциты периферической крови, находящиеся в интерфазе клеточного цикла. Синтез белка в клетках формирующейся системы иммунитета детёнышей тюленей более интенсивен, чем у взрослых, что проявляется в большем числе ЯОР циркулирующих лимфоцитов. Видовой и, возможно, индивидуальный уровень параметров активности ядрышек устанавливается, по-видимому, лишь при половом созревании [Кавцевич, Юрко, 2007].

Морфологический и морфометрический анализ и определение лейкоцитарной формулы крови позволили выявить ряд особенностей клеточного состава у щенков хохлача (табл. 6). У всех исследованных животных встречают-

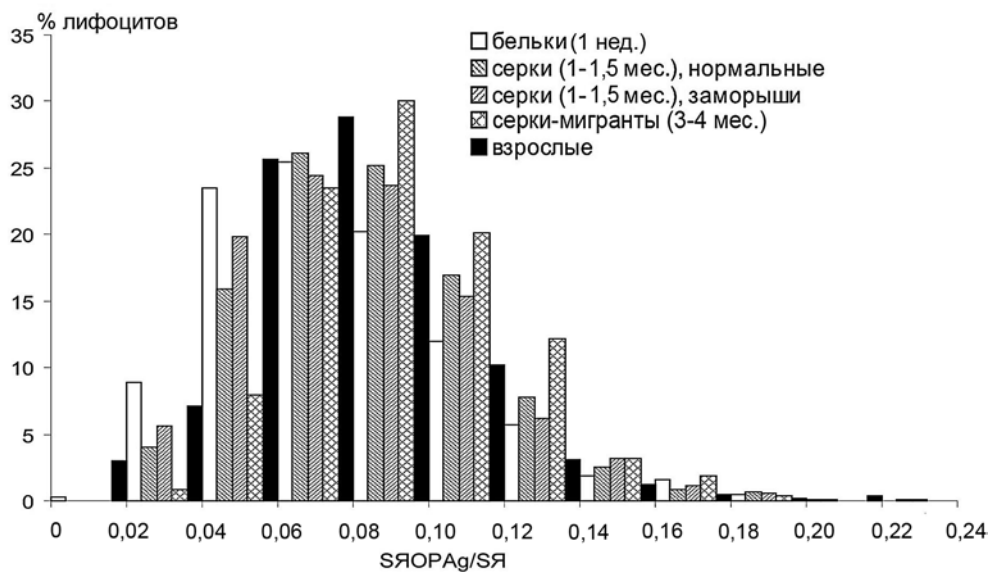


Рис. 5. Распределения лимфоцитов гренландских тюленей по относительной площади ЯОРAg

ся юные формы клеток — метамиелоциты, оксифильные нормоциты (предшественники эритроцитов, содержащие ядро) и ретикулоциты (эритроциты с остатками ядер). Среди нейтрофилов в периферической крови в значительном количестве присутствуют палочкоядерные (низкодифференцированные) формы лейкоцитов — в среднем $11,1 \pm 1,2\%$, что больше, чем у щенков гренландского и серого тюленей в данном возрастном периоде ($3,8 \pm 0,3$ и $1,6 \pm 0,3\%$, соответственно). Диаметр нейтрофилов колеблется от 11 до 15 мкм. Ядро содержит от 2 до 5 сегментов, преобладают клетки с тремя долями. Цитоплазма окрашивается в светло-голубой цвет, содержит хорошо различимую зернистость.

Щенки хохлача имеют высокое число эозинофилов — в среднем $7,5 \pm 1,6\%$ и низкий уровень моноцитов — $3,5 \pm 0,8\%$. По размеру последние близки к нейтрофилам или немного больше (12–16 мкм). Число и форма гранул в эозинофилах сильно варьируют, они, как правило, заполняют почти всю цитоплазму, ядра имеют не более двух долей. У большинства хохлачей встречаются в заметном количестве незрелые эозинофилы с палочковидными и округлыми ядрами. Согласно результатам настоящей работы у тюленей уровень эозинофилов значительно выше, чем считалось ранее.

Базофилы довольно редко встречаются у всех изученных в данном отношении видов млекопитающих. У исследованных хохлачей этот тип клеток составляет не более 4%. Их диаметр составляет 11–14 мкм, ядра сегментированы, состоят из 1–3 долей. В базофилах хохлача присутствуют в небольшом количестве

округлые зёрна от розово-фиолетовых до темно-синих.

В периферической крови щенков хохлача, как и других изученных нами видов тюленей, выявлены лимфоциты, содержащие в цитоплазме азурофильные гранулы, «большие гранулярные лимфоциты» (БГЛ). БГЛ рассматривают как первую линию обороны системы иммунитета, менее специфичную, чем индуцированный иммунитет, но быстрее реагирующую [Зак, Бутенко, 1985]. Число этих клеток у щенков хохлача низкое, в среднем $2,1 \pm 0,9\%$ (от 0 до 5%). Исследование БГЛ у морских млекопитающих заслуживает особого внимания, поскольку они, вероятно, являются предшественниками Т-лимфоцитов в эволюции системы иммунитета позвоночных (Jams, 1988).

Согласно представленным данным возрастные изменения в клеточном составе лейкоцитарной формулы крови у хохлача, серого и гренландского тюленей подчинены ряду общих закономерностей. Так, высокое содержание нейтрофилов в крови новорожденных сменяется уменьшением его в первые дни или месяцы жизни и нарастанием их числа в более позднем возрасте. Для новорожденных и взрослых тюленей хохлача характерен нейтрофильный профиль крови [Voily et al., 2006]. После завершения молочного вскармливания происходит уменьшение относительного числа сегментоядерных нейтрофилов и повышение — лимфоцитов, т.е. «физиологический перекрест» лейкоцитарной формулы крови. Сроки наступления физиологического перекреста у других видов млекопитающих с разной продолжительностью жизни и особенностями онтогенеза могут различаться. У серых тюленей он

Таблица 6. Лейкоцитарная формула крови хохлачей различных возрастных групп ($M \pm m$)

Группы тюленей	Типы лейкоцитов, %						
	Ю	П	С	Э	Б	М	Л
1*, ≤4 дня, n = 9	н.д.	58±8		4±3	0	10±4	27±8
2**, 1–1,5 мес., n = 13	0,4±0,2	11,1±1,2	37,9±2,2	7,5±1,6	1,9±0,4	3,5±0,8	37,7±2,4
3*, взрослые самцы, n = 5	н.д.	79±3,0		7±2	2±1	3±2	10±3
4*, взрослые самки, n = 6	н.д.	76±2		6±2	3±2	8±3	9±3

* По [Voily et al., 2006].

** Собственные данные.

установлен в возрасте 1–1,5 месяцев (т.е. после завершения молочного питания). Щенки же гренландского после завершения молочного кормления и ювенильной линьки уже имеют нейтрофильный профиль крови. Высокий уровень сегментоядерных нейтрофилов в первые дни и месяцы жизни обусловлен поступлением с молоком матери гормонов и рассматривается как приспособление, обеспечивающее неспецифическую защиту организма от инфекций в раннем онтогенезе [Гематология..., 1998]. Повышение же относительного числа лимфоцитов связывают с интенсивной пролиферацией лимфоидных клеток развивающейся системы специфического иммунитета.

Дополнительную информацию о состоянии лимфоидной системы позволяют получить цитохимические реакции, в частности, окрашивание белков районов организаторов ядрышка нитратом серебра. Количественные параметры (число, размеры, форма) ЯОРАг в интерфазных клетках позволяет судить об их пролиферативной активности. Количество ядрышек в клетках варьирует, однако их среднее число является характерным и наследуемым призна-

ком для кариотипа особи. Кариотип хохлача, серого, гренландского и других видов настоящих тюленей содержит две пары хромосом с ядрышковыми организаторами [Arnason, 1974]. Следовательно, максимальное число ЯОРАг в клетках хохлача, гренландского и серого тюленей равно 4. В лимфоцитах хохлачей, как правило, обнаруживаются один или два крупных ЯОРАг (диаметром 2–5 мкм), остальные же по размеру в несколько раз меньше, располагаются в ядре эксцентрично, на значительном расстоянии друг от друга. У хохлача выявлены существенные отличия от гренландского и серого тюленей по количеству ядрышковых организаторов в клетке: преобладают лимфоциты с двумя ЯОРАг — в среднем 47,0%, тогда как с одним ЯОРАг — 32,8±3,4%. У щенков гренландского и серого тюленя клетки с одним ЯОРАг составляют 71,3±3,4% и 71,0±2,9%, соответственно. Число клеток с четырьмя районами организаторов ядрышка у хохлача — 3,8%, а у гренландского и серого тюленей они встречаются очень редко (0–0,5%). Среднее число ЯОРАг в одном лимфоците составило: 1,29±0,05 (гренланд-

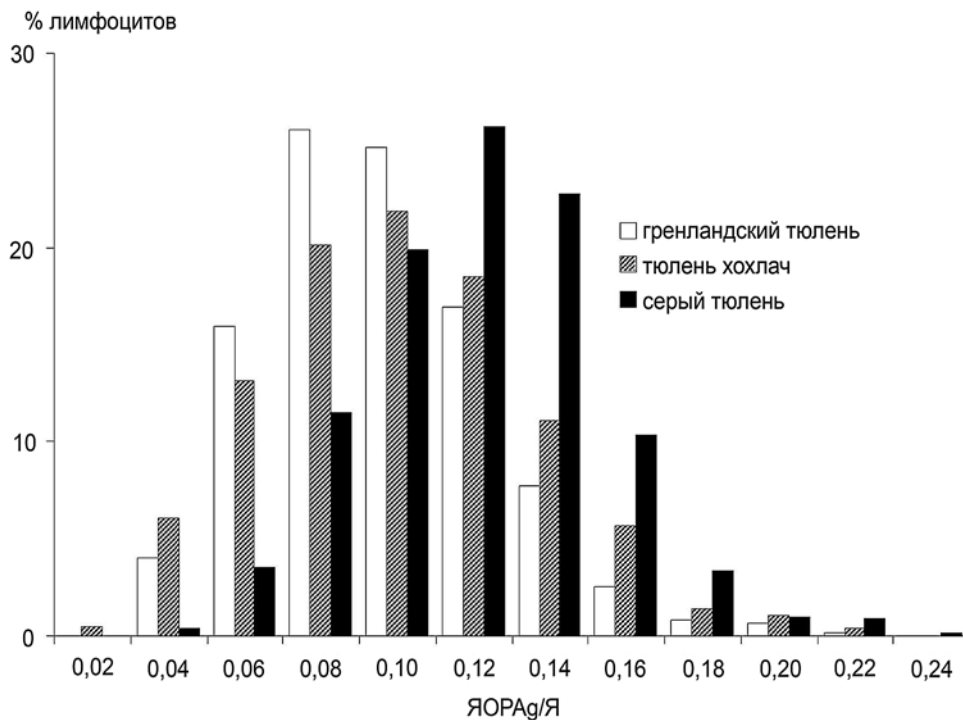


Рис 6. Распределения лимфоцитов тюленей по отношению площади районов организаторов ядрышка к площади ядра

Таблица 7. Статистические параметры распределений лимфоцитов щенков тюленей, завершивших молочное вскармливание, по относительному размеру ЯОРАg

Группы тюленей	M ± m	As	Ex	C.V.
Гренландский тюлень, n = 11	0,095±0,001	0,525	0,599	31,0
Хохлач, n = 13	0,099±0,001	0,421	0,128	35,2
Серый тюлень, n = 8	0,122±0,001	0,351	0,404	25,2

ский тюлень); 1,31±0,05 (серый тюлень); 1,91±0,08 (хохлач).

Результаты сравнения щенков гренландского и серого тюленей и хохлача одинакового возраста (1,5 мес.) по относительному размеру ЯОРАg свидетельствуют, что распределение лимфоцитов по активности организаторов ядрышка у исследованных ластоногих обладает, вероятно, видовыми особенностями (рис. 6).

Средняя величина ЯОРАg/Я у гренландского тюленя и хохлача различается незначительно, а у серого тюленя она гораздо выше ($p < 0,01$) (табл. 7).

Однако низкий показатель эксцесса распределения лимфоцитов по данному признаку у щенков хохлача по сравнению с гренландским и серым тюленями свидетельствует о наличии больших групп лимфоидных клеток, существенно различающихся по интенсивности синтеза белка, предпосылкой которого является синтез рибосомной РНК в районах организаторов ядрышка.

Исследование клеточного состава периферической крови щенков тюленя-хохлача, завершивших молочное вскармливание, но ещё не питающихся самостоятельно рыбой, выявило ряд особенностей. Присутствие в крови значительного числа низкодифференцированных клеток (нормоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов), более поздние сроки наступления физиологического перекрёста (по сравнению с гренландскими тюленями), высокое содержание эозинофилов, низкий процент больших гранулярных лимфоцитов, высокая активность организаторов ядрышка свидетельствуют о незавершенности процессов формирования кроветворной системы щенков хохлача в периоде онтогенеза, предшествующем началу их самостоятельного питания морскими организмами.

Ранее [Кавцевич, 2011] нами высказано предположение о том, что период становления костно-мозгового кроветворения у детенышей тюленей занимает относительно большую часть постнатального онтогенеза в сравнении с наземными млекопитающими. Это, вероятно, обусловлено меньшим (в 1,5–2 раза) количеством костного мозга у ластоногих и мелких китообразных, обладающих в связи с водным образом жизни более легким скелетом. Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют в пользу этого предположения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, после завершения молочного вскармливания, во время ювенильной линьки отмечаются значительные изменения лейкоцитарного состава крови детёнышей серых тюленей. Представленные данные свидетельствуют, что у щенков серого тюленя становление системы крови наиболее интенсивно происходит в первые 1,5 месяца жизни. В возрасте 3–4-х месяцев, когда животные начинают самостоятельно питаться рыбой, процессы пролиферации и дифференцировки лимфоидных замедляются.

Полученные нами средние величины клеточных параметров крови можно рассматривать как ориентировочные при оценке состояния популяции гренландских тюленей. Кроме рутинного подсчета лейкоцитов, в качестве дополнительного источника информации о метаболизме и функциях клеток крови целесообразно применять некоторые цитохимические реакции и более детальное морфологическое исследование. Такие признаки клеток крови морских млекопитающих, в частности, как наличие азурофильных гранул в цитоплазме, необычная форма ядра, могут оказаться существенными при исследовании эволюции системы крови.

Исследование клеточного состава периферической крови щенков тюленя-хохлача, завершивших молочное вскармливание, но ещё не питающихся самостоятельно рыбой, выявило ряд особенностей. Присутствие в крови значительного числа низкодифференцированных клеток (метамиелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов), высокое содержание эозинофилов, низкий процент больших гранулярных лимфоцитов, высокая активность организаторов ядрышка свидетельствуют о незавершенности процессов формирования кроветворной системы щенков хохлача в периоде онтогенеза, предшествующем началу их самостоятельного питания морскими организмами.

В раннем постнатальном онтогенезе у тюленей исследованных видов выявлены периоды «физиологического перекреста» лейкоцитарной формулы крови, обусловленные интенсивной пролиферацией лимфоидных клеток. У гренландских тюленей это явление наблюдается во время молочного вскармливания в возрасте 1–2 недель, у серых тюленей и хохлачей — после завершения молочного питания и ювенильной линьки в возрасте 1–1,5 мес.

Дальнейшее исследование тюленей различных возрастных групп с использованием морфологических и цитохимических методов позволит более точно определить периоды становления системы крови у морских млекопитающих и функциональное значение выявленных особенностей.

ЛИТЕРАТУРА

- Амосова А. В., Подугольникова О. А., Каминер Л. Б. 1986. Количественная оценка площади Ag-окрашенных ядрышкообразующих районов хромосом человека // Цитология. Т. 28. № 1. С. 113–116.
- Андреев О. М. 1979. Динамика плотности эозинофилов периферической крови как тест-стандарт для оценки адаптивных состояний // Морфофизиологические критерии адаптивных состояний. Науч. тр. Иркутск. мед. ин-та. Вып. 146. С. 5–10.
- Атлас морских млекопитающих СССР. 1980. М.: Пищевая промышленность. 184 с.
- Бобова Л. П., Кузнецов С. Л., Сапрыкин В. П. 2003. Гистофизиология крови и органов кроветворения и иммуногенеза. М.: Новая волна. 157 с.
- Гематология детского возраста: руководство для врачей. 1998. Под ред. Н. А. Алексеева. СПб.: Гиппократ. 544 с.
- Горышина Е. Н., Чага О. Ю. 1990. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та. 320 с.
- Зак К. П., Бутенко А. К. 1985. «Большие гранулосодержащие лимфоциты» — новое понятие в гематологии и иммунологии // Гематол. и трансфузиол. Т. 30. № 9. С. 45–53.
- Занина Р. Г., Занин А. В. 1990. Первичная адаптация северных морских котиков к условиям неволи // Тезисы докладов 10-го Всесоюз. совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих (Светлогорск, Россия, 2–5 октября 1990 г.). М.: ВНИЭРХ. С. 106–107.
- Кавцевич Н. Н. 2011. Морфологические и цитохимические особенности клеток крови морских млекопитающих в связи с адаптацией к среде обитания. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН. 37 с.
- Кавцевич Н. Н., Ерохина И. А. 1996. Биохимические и цитологические исследования морских млекопитающих в Арктике. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 170 с.
- Кавцевич Н. Н., Ерохина И. А. 2014. Серый тюлень атлантический // Красная книга Мурманской области. Кемерово: «Азия-принт». С. 566–567.
- Кавцевич Н. Н., Юрко А. С. 2007. Активность организаторов ядрышка в лимфоцитах гренландских тюленей разного возраста // ДАН. Т. 416. № 5. С. 706–708.
- Кудрявцев А. А., Кудрявцева Л. А., Привольнев Т. И. 1969. Гематология животных и рыб. М.: Колос. 320 с.
- Любин Н. А., Конова Л. Б. 2005. Методические рекомендации к определению и выведению гемограммы у сельскохозяйственных и лабораторных животных при патологиях. Ульяновск: ГСХА. 113 с.
- Назаренко Ю. И. 1984. Биология и промысел беломорской популяции гренландского тюленя // Морские млекопитающие. М.: Наука. С. 109–117.
- Никитин В. Н. 1956. Гематологический атлас сельскохозяйственных и лабораторных животных. М.: СельхозГиз. 260 с.
- Риган В. Д., Сандерс Т. Г., Деникола Д. Б. 2000. Атлас ветеринарной гематологии. М.: Аквариум ЛТД. 135 с. (Reagan W. J., Sanders T. G., DeNicola D. B. 1998. Veterinary hematology atlas of common domestic species. Iowa State University Press).
- Соколов В. Е., Ушакова Н. А., Козлова А. А. 1994. Изучение физиологического состояния детёнышей беломорского стада гренландского тюленя *Phocaena groenlandica* с помощью микробиологических характеристик кожно-волосного покрова животных // Изв. РАН. Серия биологическая. № 3. С. 377–385.

- Тимошенко Ю.К. 1998. Современное состояние беломорской популяции гренландского тюленя // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. Материалы 7-й междунар. конф. (Архангельск, Россия, сентябрь 1998 г.). СПб.: Изд-во Зоологического института РАН. С. 200–201.
- Шафиков И.Н. 2015. Авианисследования и численность беломорской популяции гренландского тюленя (*Phoca groenlandica*) в 2013 г. // Морские млекопитающие Голарктики. Сб. научных трудов по материалам 8-й международной конференции (Санкт-Петербург, Россия, 22–27 сентября, 2014 г.). Т. 2. М.: РОО «Совет по морским млекопитающим». С. 307–313.
- Arnason U. 1974. Comparative chromosome studies in Pinnipedia // Hereditas. Vol. 76. № 2. P. 179–225.
- Boily F., Beaudoin S., Measures L. 2006. Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the Gulf of St. Lawrence, Canada // J. Wildlife Diseases. Vol. 42. № 1. P. 115–132.
- Bossart G. D., Reidarson T. H., Dierauf L. A., Duffield D. A. 2001. Clinical pathology // Handbook of marine mammal medicine. 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida. P. 383–436.
- Burns J. M., Lestyk K. C., Folkow L. P. 2007. Size and distribution of oxygen stores in harp and hooded seals from birth to maturity // J. Comp. Physiol. B. № 177. P. 687–700.
- Cabanac A. J. 2000. Blood volume in hooded seal: implications for diving // Can. J. Zool. Vol. 78. № 7. P. 1293–1299.
- Crocker J. 1990. Nucleolar organiser regions // Current Topics in Pathology. Vol. 82. P. 91–149.
- Engelhardt F. R. 1979. Haematology and plasma chemistry of captive pinnipeds and cetaceans // Aquat. Mammals. Vol. 7. № 1. P. 11–20.
- Geraci J. R. 1971. Functional hematology of the harp seal *Pagophilus groenlandicus* // Physiol. Zool. Vol. 44. № 3. P. 162–170.
- Geraci J. R., Smith T. G. 1975. Functional hematology of ringed seals (*Phoca hispida*) in the Canadian arctic // J. Fish. Res. Board. Can. Vol. 32. P. 2559–2564.
- Haug T., Øigård T. 2009. Grønlandssel. Havets ressurser og miljø 2009 // Fisken og havet, saernummer 1. P. 43–45.
- Howell W. M., Black D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolar organizer regions with a protective colloidal developer. A 1-step method // Experientia. Vol. 36. P. 1014–1015.
- Jams S. P., 1988. Large granular lymphocytes in the liver // Hepatology. Vol. 8. № 2. P. 419–421.
- Mayr B., Schellander K., Schlegler W. 1983. Investigation of nucleolar markers in the peripheral blood smear cells in nine species of domestic animals and in man // Zbl. Vet. Med. Bd. 30. № 2. P. 725–736.
- Murmann W., Schoon A., Schulz L. 1984. Pathologie der marinen Sauger // Tierarztl. Prax. Vol. 12. № 1. P. 105–115.
- Nordøy E. S., Blix A. S. 1991. Glucose and ketone body turnover in fasting grey seal pups // Acta Physiol. Scand. Vol. 141. P. 565–571.
- Potelov V. A., Golikov A. P., Bondarev V. A. 2003. Estimated pup production of harp seals *Pagophilus groenlandicus* in the White Sea, Russia, in 2000 // ICES J. Mar. Sci. Vol. 60. P. 1012–1017.
- Ridgway S. H. 1972. Homeostasis in aquatic environment // Mammals of the sea, biology and medicine. Ch. 10. P. 590–747.
- Ronald K., Foster M. E., Johnson E. 1969. The harp seal, *Pagophilus groenlandicus* (Erxleben, 1777). 2. Physical blood properties // Can. J. Zool. Vol. 47. № 3. P. 461–468.

REFERENCES

- Amosova A. V., Podugol'nikova O. A., Kaminer L. B. 1986. Kolichestvennaya ocenka ploshchadi Ag-okrashennyh yadryshkooobrazuyushchih rayonov hromosom cheloveka [Quantitative estimation of area of Ag-stained nucleolus-forming regions of human chromosomes] // Citologiya. T. 28. № 1. S. 113–116.
- Andreev O. M. 1979. Dinamika plotnosti eozinofilov perifericheskoy krovi kak test-standart dlya ocenki adaptivnyh sostojaniy [Peripheral blood eosinophils density dynamics as test-standard for estimation of adaptive states] // Morfofiziologicheskie kriterii adaptivnyh sostojaniy. Nauch. Tr. Irkutsk. Med. In-ta. Vyp. 146. S. 5–10.
- Atlas morskikh mlekopitajuschih SSSR. 1980. [USSR marine mammals atlas]. M.: Pischevaya promyshlennost'. 184 s.
- Bobova L. P., Kuznecov S. L., Saprykin V. P. 2003. Gistofiziologiya krovi i organov krovotvoreniya i immunogeneza [Histophysiology of blood and of organs of hematopoiesis and immunogenesis]. M.: Novaya volna. 157 s.
- Gematologiya detskogo vozrasta: rukovodstvo dlya vrachey. 1998. [Hematology of childhood age: manual for doctors]. SPb.: Gippokrat. 544 s.
- Goryshina E. N., Chaga O. Ju. 1990. Sravnitel'naya gistologiya tkaney vnutrenney sredy s osnovami immunologii [Comparative histology of internal environment tissues with basics of immunology]. L.: Izd-vo Leningr. un-ta. 320 s.
- Zak K. P., Butenko A. K. 1985. «Bol'shie granuloderzhaschie limfocity» — novoe ponyatie

- v gematologii i immunologii [«Large granular lymphocytes» — a new concept in hematology and immunology] // *Gematol. i transfuziol.* T. 30. № 9. S. 45–53.
- Zanina R. G., Zanin A. V. 1990. Pervichnaya adaptaciya severnyh morskikh kotikov k usloviyam nevoli [Primary adaptation of northern fur seals to captivity conditions] // *Tezisy dokladov 10-go Vsesoyuz. soveshch. po izucheniyu, ohrane i racional'nomu ispol'zovaniyu morskikh mlekoopitayushchih (Svetlogorsk, Rossiya, 2–5 oktyabrya 1990 g.)*. M.: VNIERH. S. 106–107.
- Kavtsevich N. N. 2011. Morfologicheskie i citohimicheskie osobennosti kletok krovi morskikh mlekoopitayushchih v svyazi s adaptaciey k srede obitaniya [Morphological and cytochemical features of marine mammals blood cells in connection with adaptation to the environment]. Avtoref. diss. ... dokt. biol. nauk. Murmansk: MMBI KNC RAN. 37 s.
- Kavtsevich N. N., Erohina I. A. 1996. Biohimicheskie i citologicheskie issledovaniya morskikh mlekoopitayushchih v Arktike [Biochemical and cytological investigations of marine mammals in Arctic]. Apatity: Izd-vo KNC RAN. 170 s.
- Kavtsevich N. N., Erohina I. A. 2014. Seryj tjuven' atlanticheskij [Atlantic grey seal] // *Krasnaya kniga Murmanskoy oblasti. Kemerovo: «Azia-print»*. S. 566–567.
- Kavtsevich N. N., Yurko A. S. 2007. Aktivnost' organizatorov jadrishka v limfocitah grenlandskih tjuveney raznogo vozrasta [Nucleolus organizers activity in lymphocytes of harp seals of different ages] // *DAN*. T. 416. № 5. S. 706–708.
- Kudryavcev A. A., Kudryavceva L. A., Privol'nev T. I. 1969. Gematologiya zhivotnyh i ryb [Hematology of animals and fishes]. M.: Kolos. 320 s.
- Lyubin N. A., Konova L. B. 2005. Metodicheskie rekomendacii k opredeleniyu i vyvedeniyu gemogrammy u sel'skohozyaystvennyh i laboratornyh zhivotnyh pri patologiyah [Methodical recommendations to hemogram determine and estimation in agricultural and laboratory animals at pathologies]. Ul'janovsk: GSHA. 113 s.
- Nazarenko Ju. I. 1984. Biologiya i promysel belomorskoj populjacji grenlandskogo tjuvenja [Biology and fishery of White Sea harp seal population] // *Morskie mlekoopitajushchie*. M.: Nauka. S. 109–117.
- Nikitin V. N. 1956. Gematologicheskij atlas sel'skohozyajstvennyh i laboratornyh zhivotnyh [Hematological atlas of agricultural and laboratory animals]. M.: Sel'hozGiz. 260 s.
- Sokolov V. E., Ushakova N. A., Kozlova A. A. 1994. Izuchenie fiziologicheskogo sostojaniya detenyshel belomorskogo stada grenlandskogo tjuvenja *Pagophilus groenlandica* s pomosh'ju mikrobiologicheskikh harakteristik kozhno-vołosjanogo pokrova zhivotnyh [Study of physiological state of young White Sea calfs of harp seals *Pagophilus groenlandica* using microbiological characteristics of animals skin and hair] // *Izv. RAN. Seriya biologicheskaya*. № 3. S. 377–385.
- Timoshenko Ju. K. 1998. Sovremennoe sostojanie belomorskoj populjacji grenlandskogo tjuvenja [Current state of White Sea population of harp seal] // *Problemy izuchenija, racional'nogo ispol'zovaniya i ohrany prirodnyh resursov Belogo morja. Materialy 7-oy mezhdunar. konf., (Arhangel'sk, Rossiya, sentjabr' 1998 g.)*. SPb.: Iz-vo Zoologicheskogo instituta RAN. S. 200–201.
- Shafikov I. N. 2015. Aviaissledovaniya i chislennost' belomorskoj populjacji grenlandskogo tjuvenja (*Phoca groenlandica*) v 2013 g. [Aerial research and White sea Greenland seals (*Phoca groenlandica*) population abundance in 2013] // *Morskie mlekoopitajushchie Golarktiki. Sb. nauchnyh trudov po materialam 8-oy mezhdunarodnoj konferencii (Saint-Peterburg, Rossiya, 22–27 sentyabrya, 2014 g.)*. T. 2. M.: ROO «Sovet po morskim mlekoopitayushchim». S. 307–313.

Поступила в редакцию 04.04.2017 г.
Принята после рецензии 10.04.2017 г.

Age features of blood cellular composition of seals

N. N. Kavtsevich, T. V. Minzyuk

Murmansk marine biological institute (FSBSI «MMBI KSC RAS»), Murmansk

Results of morphological and cytochemical blood study of gray and harp seals and hooded seals pups of different ages are presented. In addition the study of blood smears stained according to Romanovsky-Giemsa, identification of proteins of nucleolus organizer regions by silver nitrate is used (NORAg). The number and size of NORAg are parameters characterizing nucleoli synthetic activity during preparation of cells to divide. In gray and hooded seals the greatest changes in blood cell composition occur after weaning. Proliferative activity of lymphoid cells of gray seals is highest at the age of 1.5 months, in seals of 3–4 months it reduced. In studied species of seals periods of blood leukocyte formula «physiological decussation» (equalizing the number of lymphocytes and segmented neutrophils) caused by intense proliferation of lymphoid cells are found. In harp seals this phenomenon observed during weaning at the age of 1–2 weeks, in gray seals and hooded seals it occurs after milk feeding and juvenile molt at the age of 1–1.5 months. High number and size of NORAg in lymphocytes testify of active formation of seal pups hematopoietic system in these periods of ontogenesis. In all studied seal pups are present low differentiated cells, metamyelocytes and erythrocyte precursors containing nucleus. High number of eosinophils is the peculiarity of blood cellular composition in adult harp seals and 3.5–4 months pups migrated into the south-western part of the White sea. Possible significance of found features of blood composition is discussed.

Key words: marine mammals, seals, hematology, blood cells.