

3. Лашин А.П., Симонова Н.В., Симонова Н.П. Адаптогены в профилактике диспепсии у новорожденных телят // Вестн. КрасГАУ. – 2013. – № 8. – С. 28–32.
4. Лашин А.П., Симонова Н.В., Симонова Н.П. Настои лекарственных растений в профилактике диспепсии у новорожденных телят // Вестн. КрасГАУ. – 2013. – № 9. – С. 177–181.
5. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Окислительный стресс (диагностика, терапия, профилактика): монография. – Новосибирск: Наука, 1993. – 181 с.
6. Симонова Н.В. Фитопрепараты в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных ультрафиолетовым облучением: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Благовещенск, 2012. – 46 с.
7. Симонова Н.В., Доровских В.А., Симонова Н.П. Ультрафиолетовое облучение и окислительный стресс. Возможности фитокоррекции: монография. – Благовещенск, 2014. – 140 с.
8. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Адаптогены в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных воздействием холода и ультрафиолетовых лучей // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2011. – Вып. 40. – С. 66–70.



УДК 619:612.112.9:636

Е.Г. Турицына, Е.А. Климова

### МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ЦИТОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПЕРЕПЕЛОВ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

*В статье представлены результаты исследований, связанные с изучением морфологической и цитометрической характеристик лейкоцитов крови перепелов от суточного до 120-дневного возраста.*

**Ключевые слова:** перепел, морфология, цитометрия, лейкоциты, кровь.

E.G. Turitsyna, E.A. Klimova

### THE MORPHOLOGICAL AND CYTOMETRIC CHARACTERISTIC OF THE QUAIL BLOOD LEUKOCYTES IN THE AGE ASPECT

*The research results connected with the studying of the morphological and cytometric characteristic of the blood leukocytes of quails from the one-day age to 120-day age are presented in the article.*

**Key words:** quail, morphology, cytometry, leukocytes, blood.

**Введение.** Перепеловодство – сравнительно молодая, но перспективная и интенсивно развивающаяся отрасль птицеводства. Перепела имеют ряд существенных продуктивно-хозяйственных преимуществ перед другими видами птицы. Так, у перепелов в пять раз выше скорость роста, чем у кур, у них более ранняя яйценоскость (5–6-недельный возраст) [1]. Состояние птицы в разные периоды функционального напряжения можно контролировать по крови, которая способна быстро реагировать на экстремальные внутренние и внешние воздействия изменением своего морфологического и биохимического состава. Клетки крови, особенно лейкоциты, играют центральную роль в неспецифической защите и в иммунологических реакциях. Выздоровление сопровождается восстановлением морфофункциональной характеристики крови [4]. В доступной литературе встречаются сведения о морфологическом составе и биохимических показателях крови японского перепела при использовании различных кормовых добавок [3, 5]. Однако достоверные данные о морфологических и цитометрических параметрах клеток крови японского перепела в постнатальном онтогенезе отсутствуют, что делает актуальными представленные научные исследования.

**Цель исследований.** Изучение морфологической и цитометрической характеристики лейкоцитов крови перепелов в возрастном аспекте.

**Задачи исследований.** Провести морфологические и цитометрические исследования лейкоцитов крови японского перепела с суточного до 120-суточного возраста.

**Материалы и методы исследований.** Исследования были проведены в 2013–2014 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета. Объектом исследований являлся японский перепел (*Coturnix japonica*), поступивший из вивария парка флоры и фауны «Роев ручей» (г. Красноярск). Материалом для исследований служила цельная кровь, полученная из наружной яремной вены птиц. Отбор

материала осуществляли с суточного до 35-дневного возраста с интервалом в 7 сут, а затем у 60-, 90- и 120-суточных перепелов. Всего исследован материал от 45 гол.

При морфологическом исследовании лейкоцитов для дифференцировки ядер и выявления зернистости клеток мазки крови окрашивали комбинированным методом по Паппенгейму, сочетающим обработку мазков фиксатором Май-Грюнвальда с последующим докрасиванием краской Романовского-Гимза [2]. Окрашенные мазки исследованы на микроскопе «МикМед-6» (Россия) с помощью иммерсионного объектива. Микрофотографирование произведено цифровой камерой CAM V200 (Vision, Австрия). Подсчет лейкоцитарной формулы произведен с использованием одиннадцатиклавишного счетчика.

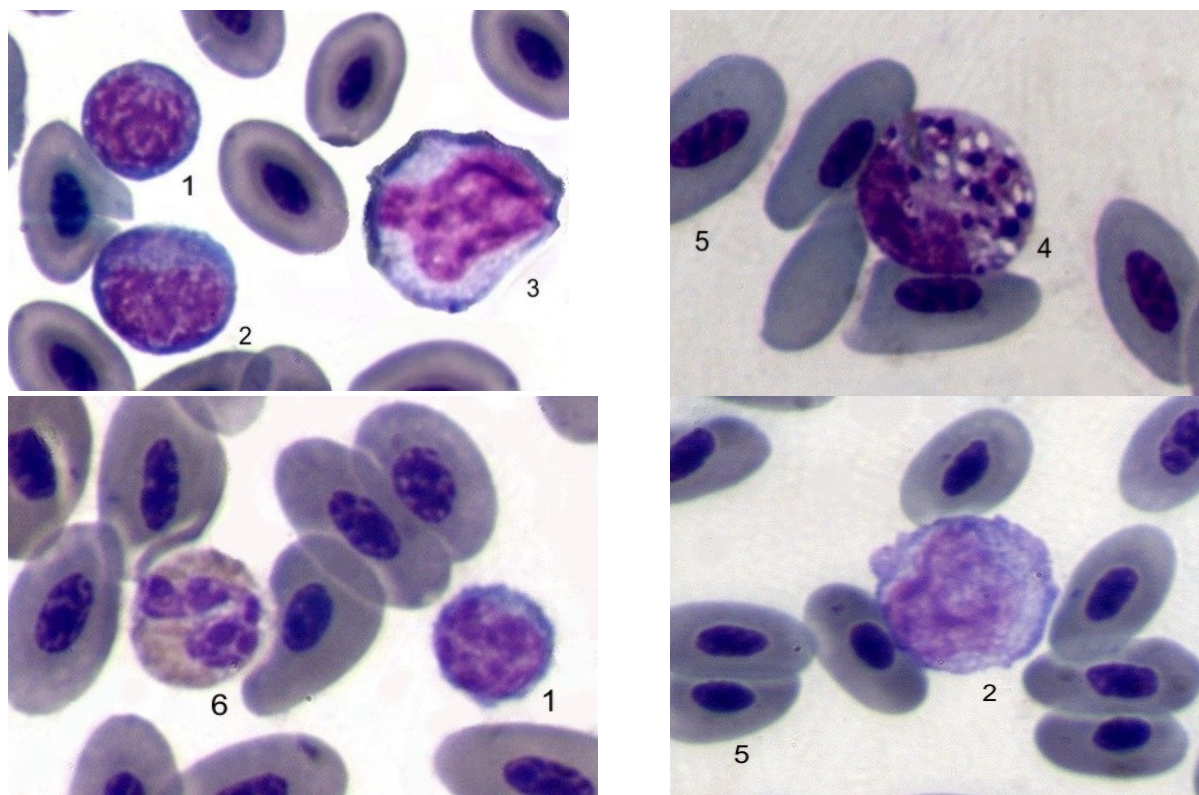
Цитометрические исследования лейкоцитов проведены при помощи компьютерной системы анализа изображений «ЦитоБиоГрафика» версия 2.1. Определены линейные размеры лейкоцитов и ядер мононуклеаров, ядерно-клеточное отношение лимфоцитов (ЯКО).

Статистическую обработку полученных данных проводили на ПК с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel 2007. Достоверность возрастных различий цитометрических показателей лейкоцитов определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при  $P \leq 0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** Известно, что кровь состоит из жидкой фазы – плазмы и взвешенных в ней форменных элементов – эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов [2]. В зависимости от зернистости цитоплазмы лейкоциты птиц делятся на зернистые (гранулоциты) и незернистые (агранулоциты). К зернистым лейкоцитам относятся базофильные, эозинофильные и псевдоэозинофильные гранулоциты. Незернистыми клетками являются лимфоциты и моноциты.

Исследование морфологического состава лейкоцитов показали, что лимфоциты – это округлые клетки с крупным округлым или слегка бобовидным ядром красно-фиолетового цвета, с грубыми глыбками хроматина, расположены эксцентрично (рис. 1). Цитоплазма голубого или синего цвета в виде узкого ободка вокруг ядра может иметь просветленную перинуклеарную зону. Изредка встречаются лимфоциты с многочисленными цитоплазматическими выпячиваниями, что является морфологическим признаком активного состояния клеток (рис. 1).

Минимальные диаметры лимфоцитов в разные периоды жизни колебались от 5,7 до 6,4 мкм, что характерно для малых лимфоцитов, максимальные – от 11,1 до 12,3 мкм, что присуще средним лимфоцитам. Незначительное содержание в мазках крови больших лимфоцитов свидетельствовало, на наш взгляд, об интактном состоянии опытной птицы.



*Рис. 1. Морфологическая характеристика лейкоцитов крови перепелов: 1 – малый лимфоцит; 2 – средний лимфоцит; 3 – моноцит; 4 – базофил; 5 – эритроцит; 6 – псевдоэозинофил (окраска по Паппенгейму; ув.×1000)*

Популяция лимфоцитов представлена преимущественно малыми и средними лимфоцитами, о чем свидетельствовали результаты цитометрических исследований. У суточных перепелов преобладали малые лимфоциты с ядерно-клеточным отношением (ЯКО) от 0,70 до 0,98 ед. (53 %), около 40 % составляли средние лимфоциты с показателями ЯКО от 0,50 до 0,69 ед. Уровень больших лимфоцитов с ЯКО 0,36–0,46 ед. не превышал 7 %. В течение первой недели жизни уровень малых лимфоцитов сократился до 32,5 %, а средних и больших вырос до 55,8 и 12,5 % соответственно. Это соотношение в популяции лимфоцитов сохранилось до 14-суточного возраста. Третья-пятая недели жизни характеризовались ростом относительного содержания больших лимфоцитов, что косвенно указывает на воздействие какого-либо раздражителя на иммунную систему перепелов. На наш взгляд, это могло быть вызвано сменой рациона кормления, колебанием температурного режима, транспортным стрессом и т.д. Дальнейшие исследования показали преобладание в крови перепелов средних лимфоцитов (рис. 2).

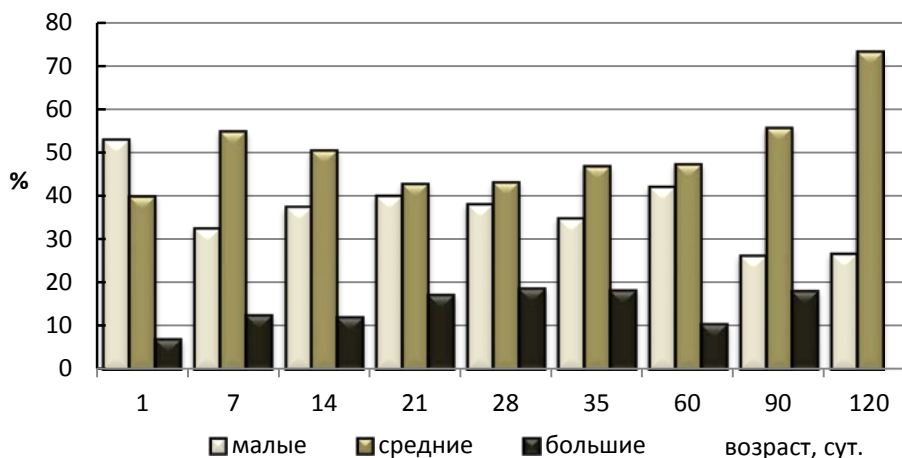


Рис. 2. Распределение популяции лимфоцитов периферической крови японского перепела в постнатальном онтогенезе

Второй группой мононуклеаров крови являются моноциты. Это крупные клетки неправильной округлой формы. Ядро слабосегментированное или бобовидное розовато-фиолетового цвета, с грубыми глыбками хроматина. Цитоплазма серовато-голубая, часто вакуолизированная. Исследования показали колебания размеров моноцитов от 9,6 до 14,5 мкм в разные возрастные периоды.

Исследованием гранулоцитарных лейкоцитов установлена следующая морфологическая характеристика псевдоэозинофилов, эозинофилов и базофилов перепелов. Псевдоэозинофильные гранулоциты – округлые клетки с палочковидным или сегментированным, реже округло-овальным ядром. Считается, что форма ядра отражает степень дифференциации клетки. Наиболее зрелыми являются гранулоциты с сегментоядерным ядром [2]. Именно эти клетки преобладали у перепелов в течение всех периодов исследований. Цитоплазма клеток почти бесцветна, заполнена веретеновидными гранулами с заостренными концами красновато-коричневого цвета. Менее заметны среди них мелкие округлые гранулы. Размеры псевдоэозинофильных гранулоцитов колебались от 7 до 13 мкм, чаще встречались клетки размером 8–11 мкм.

Эозинофилы – крупные округлые клетки с ядром, состоящим из двух крупных сегментов и узкой перемычки между ними. Цитоплазма бледно-голубого цвета, равномерно заполненная округлыми, обособленно расположенными гранулами красного цвета. Размеры клеток в среднем составляли 9–12 мкм.

Базофилы – крупные, округлые клетки с ядрами палочковидной или сегментарной формы, их контуры плохо заметны из-за обилия крупных вишнево-фиолетовых округлых гранул. Размеры базофилов не зависели от возраста птицы и колебались от 8 до 11,5 мкм.

В результате проведенных исследований установлены возрастные особенности соотношения разных видов лейкоцитов. У суточных перепелов кровь характеризовалась преобладанием псевдоэозинофильных гранулоцитов, содержание которых в среднем составило  $55,59 \pm 1,23$  % (табл.). При этом относительное содержание базофильных гранулоцитов зарегистрировано на минимальном уровне –  $1,75 \pm 0,28$  %. За первую неделю жизни количество лимфоцитов увеличилось почти на 19 %, а содержание псевдоэозинофилов сократилось более чем на 14 % ( $P \leq 0,05$ ). В тот же возрастной период отмечался рост числа базофилов на 60 %, содержание моноцитов и эозинофилов практически сохранялось на исходном уровне.

На третьей неделе жизни кровь перепелов приобрела лимфоцитарный профиль, который сохранялся до конца наблюдений. Максимальное содержание лимфоцитов зафиксировано у птицы двухмесячного возраста –  $69,42 \pm 1,41$  %. В этот же период уровень псевдозозинофильных гранулоцитов упал до минимальных показателей и в среднем составил  $20,84 \pm 1,01$  %, что в 2,6 раза меньше, чем у суточной птицы ( $P \leq 0,01$ ).

Относительное содержание эозинофильных гранулоцитов достоверно отличалось от исходных показателей у птицы 35-суточного возраста ( $P \leq 0,05$ ) и составило  $1,71 \pm 0,32$  %, что представляло собой минимальные значения за весь период исследований. Максимальное содержание эозинофилов отмечено у перепелов 120-суточного возраста (табл.). Количество моноцитов во все периоды исследований характеризовалось относительной стабильностью, их уровень колебался в диапазоне от 4 до 6 %.

**Возрастные изменения лейкоцитарной формулы крови перепелов, %**

Возраст, сут	Базофилы	Эозинофилы	Псевдозозинофилы	Лимфоциты	Моноциты
1	$1,75 \pm 0,28$	$3,25 \pm 0,34$	$55,59 \pm 1,23$	$34,06 \pm 1,32$	$5,34 \pm 0,44$
7	$2,80 \pm 0,31^*$	$3,20 \pm 0,37$	$48,15 \pm 0,77^*$	$40,40 \pm 0,75^*$	$5,45 \pm 0,62$
14	$1,00 \pm 0,27$	$2,90 \pm 0,32$	$42,40 \pm 2,22^{**}$	$48,80 \pm 2,18^{**}$	$4,20 \pm 0,39$
21	$3,05 \pm 0,79$	$3,25 \pm 0,59$	$28,90 \pm 1,96^{**}$	$59,30 \pm 2,16^{**}$	$5,50 \pm 0,59$
28	$0,75 \pm 0,22^*$	$2,45 \pm 0,35$	$29,00 \pm 2,09^{**}$	$62,60 \pm 1,86^{**}$	$5,50 \pm 0,60$
35	$0,61 \pm 0,15$	$1,71 \pm 0,32^*$	$35,77 \pm 1,98^{**}$	$56,09 \pm 1,74^{**}$	$5,77 \pm 0,63$
60	$0,21 \pm 0,10$	$3,37 \pm 0,56$	$20,84 \pm 1,01^{**}$	$69,42 \pm 1,41^{**}$	$6,21 \pm 0,54$
90	$0,19 \pm 0,09$	$3,48 \pm 0,40$	$27,78 \pm 1,14^{**}$	$64,78 \pm 1,16^{**}$	$4,07 \pm 0,50$
120	$0,15 \pm 0,09$	$3,54 \pm 0,30$	$26,54 \pm 2,12^{**}$	$64,96 \pm 1,99^{**}$	$4,85 \pm 0,55$

\*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$  относительно суточного возраста.

У перепелов трех- и четырехмесячного возраста содержание всех видов лейкоцитов крови стабилизировалось, о чем свидетельствует незначительная вариабельность полученных показателей.

### Выводы

1. В крови перепелов присутствуют все виды гранулоцитарных и агранулоцитарных лейкоцитов, морфологическая характеристика которых не меняется в течение жизни птицы.
2. Возрастные изменения соотношения лейкоцитов крови перепелов характеризуются сменой гранулоцитарного профиля на лимфоцитарный в течение первых трёх недель жизни. Окончательная стабилизация клеточного состава крови происходит у двухмесячной птицы.
3. В популяции лимфоцитов суточных перепелов преобладают малые лимфоциты с высокими ядерно-клеточными показателями. С возрастом повышается содержание средних лимфоцитов, которые становятся преобладающими клетками в течение остального периода постнатального развития.

### Литература

1. Гуцин В.В., Кроик Л.В. Перепеловодство должно развиваться // Птицеводство. – 2003. – № 6. – С. 22–23.
2. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Минск: Ураджай, 1986. – 183 с.
3. Сухорукова О.А., Костеша Н.Я. Механизм повышения продуктивности перепелов путем применения экстракта пихты сибирской // Вестн. Том. гос. пед. ун-та. – 2010. – № 3. – С. 36–39.
4. Турицына Е.Г. Оценка морфофункционального состояния крови птиц при вирусных антигенных стимуляциях: науч.-практ. рекомендации. – Красноярск, 2010. – 50 с.
5. Шваб А.А. Показатели естественной резистентности перепелов в постнатальном онтогенезе и при введении в рацион концентрата молочной сыворотки: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 2010. – 24 с.

