

УДК 599.745.31:591.111.1

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2023 г. Т. В. Селиверстова*

Мурманский морской биологический институт РАН, Мурманск, 183010 Россия

*e-mail: minzyuk@mail.ru

Поступила в редакцию 03.08.2022 г.

После доработки 06.12.2022 г.

Принята к публикации 16.12.2022 г.

Исследовали морфологические и морфометрические параметры эритроцитов (размер, форма и цвет) у пяти видов морских млекопитающих. Дана относительная оценка кислородных запасов в крови у щенков гренландских (*Pagophilus groenlandicus* (Erxleben 1777)) и серых (*Halichoerus grypus* (Fabricius 1791)) тюленей в период освоения ими водной среды. Установлено, что морфометрические параметры красных кровяных клеток изменяются в зависимости от возраста, условий обитания и связаны с филогенетическим положением животных.

Ключевые слова: тюлени, дельфины, кровь, размер и форма эритроцитов

DOI: 10.31857/S0044513423030133, **EDN:** BXEWBM

В процессе длительной эволюции к водной и полуводной среде у морских млекопитающих сформировались свои особенности строения и функционирования кроветворной системы (Cavagnolo, 1979; Сыкало, 1989; Соколова, Денисенко, 2006). Одним из основных механизмов, определяющих продолжительность ныряния животных, является наличие запасов кислорода в теле (в крови и мышцах). Эритроциты — главные переносчики гемоглобина — под воздействием ряда физиологических факторов (изменение химического состава, ионного баланса, осмотического давления плазмы крови) способны быстро менять форму, размер и структуру, тем самым оказывая влияние на дыхательную функцию крови.

Размер эритроцитов у млекопитающих меняется в разных физиологических состояниях (Калабухова, 2005), зависит от массы тела (Kostecka-Myrcha, 2002; Kizhina et al., 2020), типа диеты (Unruh, 2018). Установлено, что у грызунов размер эритроцитов зависит от филогенетического положения, условий окружающей среды и веса животных (Kizhina et al., 2020).

Выявлены видовые различия по величине эритроцитов. Например, у рыб, по сравнению с наземными млекопитающими, больше относительная площадь поверхности эритроцитов, а при этом у обыкновенного тюленя, некоторых видов дельфинов средний объем эритроцита меньше, чем у рыб (Коржув, Глазова, 1968). Объем эритроцитов дельфинов (Delphinidae) существенно не отличается от данного показателя у человека и собак. Средний

диаметр эритроцитов у Delphinidae и Phocidae составляет 6–8 мкм (Gregory, 2005).

Описание морфологии эритроцитов крови морских млекопитающих представлено в небольшом числе исследований (Ronald et al., 1969; DeMonte, Pilleri, 1979; Кавцевич, Ерохина, 1996; Мисюра, Богданова, 1997; Clark et al., 2002; Володина, Федорова, 2015). Настоящая работа посвящена сравнительному анализу морфометрических параметров эритроцитов в периферической крови пяти видов морских млекопитающих (гренландский и серый тюлени, морской заяц, кольчатая нерпа и афалина) в зависимости от условий обитания и возраста животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Серый тюлень представлен следующими возрастными группами: 1 — новорожденные ($n = 14$), 2 — питающиеся молоком (2–3 недели, $n = 16$), 3 — завершившие молочное вскармливание (1–1.5 месяцев, $n = 18$), 4 — самостоятельно питающиеся рыбой щенки (3–4 месяца, $n = 6$), 5 — взрослые животные (3.5 года, $n = 2$). Гренландский тюлень: 1 — 1-недельные бельки ($n = 38$), 2 — 1–1.5-месячные серки (2а “нормальные” — хорошо упитанные детеныши весом 30–35 кг ($n = 27$) и 2б “заморыши” — весом 10–15 кг) ($n = 36$), 3 — 3–4-месячные серки ($n = 6$) и 4 — взрослые животные ($n = 10$). Исследованы материалы от взрослых особей: морского зайца (*Erignatus barbatus barbatus* (Erxleben 1777)) ($n = 6$), кольчатой нерпы (*Phoca hispida* (Schreber 1775)) ($n = 1$)

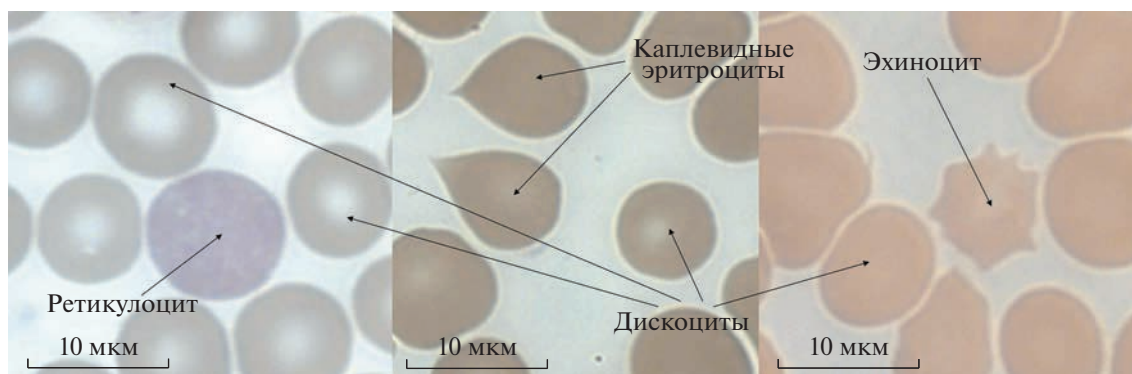


Рис. 1. Эритроциты гренландских тюленей (масляная иммерсия, объектив $\times 100$, окуляр $\times 10$).

(получены во время береговых экспедиций в Онежский залив Белого моря) и черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* (Varabash 1940)) ($n = 11$) в первые дни после отлова (на морской биологической станции ИПЭЭ РАН (пос. Малый Утриш)). Материал для исследования от серых тюленей получен на щенных залежках (о-в Большой Айнов, Баренцево море), от гренландских тюленей — на зверобойном промысле (пос. Койда, Архангельская обл., и пос. Чапома, Мурманская обл.).

Возраст щенков тюленей определяли по характеру окраски и степени линьки, возраст взрослых китообразных — по размерным характеристикам тела, возраст ластоногих — по состоянию когтей на передних лапах (Чапский, 1952; Светочев, Светочева, 1998; Кондаков, 1999).

Кровь у тюленей брали из внутривенной вены (Geraci, Smith, 1975), на промысле — из правого желудочка сердца в шприц с гепарином; у дельфинов — по методике, описанной Риджвеем и соавторами (Ridgway et al., 1970). Мазки крови изготавливали общепринятым способом (Предтеченский, 1960), окрашивали смесью Романовского-Гимза. Морфологию клеток крови изучали с помощью микроскопа Axio Imager M1, оснащенного программным обеспечением AxioVision (фирмы Zeiss). Все окрашенные препараты изучали, используя масляную иммерсию (объектив $\times 100$, окуляр $\times 10$). В каждой мазке измеряли не менее 500 эритроцитов, свободно расположенных в видимом поле без наложений клеток друг на друга и без деформации от близлежащих клеток, чтобы исключить сжатие эритроцитов в зависимости от плотности мазка.

Определяли следующие морфометрические показатели эритроцитов: площадь и диаметр (величины, характеризующие размер клетки), неровность контура и форму-фактор (для оценки формы клетки), оптическую плотность (интенсивность окраски). Данные размерные характеристики выделенных объектов автоматически измеряются в программе AxioVision. Форму-фактор рассчитывали по формуле $4\pi \times (\text{площадь выделенной области}/(\text{пе-$

риметр выделенной области)²). Показатель формы идеально круглых объектов равен 1. Все объекты со значениями меньше 1 обладают неправильной формой.

Определяли наличие незрелых и патологических форм эритроцитов. Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам (Урбах, 1963), достоверность разности средних значений оценивали по критерию Стьюдента, различия при $p < 0.05$ рассматривались как статистически значимые.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех исследуемых животных, вне зависимости от возраста и условий обитания, преобладают нормальные (по форме) эритроциты — круглые двояковогнутые дискоциты, равномерно окрашенные в розовый цвет и имеющие небольшое просветление в центре (рис. 1).

Также присутствуют в крови в небольшом количестве обратимые (эхиноциты, стоматоциты) и необратимые (кодоциты, шизоциты, сфероциты), незрелые и молодые формы эритроцитов (рис. 1). В медицине используют данные об отклонении от нормы формы и размеров эритроцитов для диагностики ряда заболеваний человека. Эритроциты определенных (нормальных) размеров и правильной формы необходимы живым организмам для прохождения через капилляры и осуществления газообмена в тканях.

По форме и размеру эритроциты морских млекопитающих схожи с таковыми у человека. Средний диаметр эритроцитов у человека 7.1–7.9 мкм. У исследуемых нами животных данный показатель изменяется в пределах 7.4–9.0 мкм и зависит от видовой принадлежности, возраста и условий обитания объектов (табл. 1).

Морфологический и морфометрический анализ эритроцитов крови позволил выявить ряд особенностей у щенков серых и гренландских тюленей в разные возрастные периоды. В первые недели жиз-

Таблица 1. Морфометрические параметры эритроцитов гренландских и серых тюленей

Возрастная группа	Площадь, мкм ²	Диаметр, мкм	Оптическая плотность, у. е.	Форма-фактор, у. е.	Неровность контура, у. е.
Гренландский тюлень					
1	53.92 ± 1.25	8.30 ± 0.17	0.212 ± 0.030	0.938 ± 0.001	1.92 ± 0.04
2a	51.54 ± 1.61	7.85 ± 0.10	0.154 ± 0.026	0.870 ± 0.002	1.74 ± 0.02
2б	55.56 ± 2.31	8.39 ± 0.17	0.137 ± 0.008	0.892 ± 0.023	1.88 ± 0.06
3	47.65 ± 0.49	7.85 ± 0.04	0.153 ± 0.009	0.897 ± 0.001	1.77 ± 0.01
4	51.40 ± 0.92	8.07 ± 0.19	0.189 ± 0.011	0.913 ± 0.004	1.83 ± 0.05
Серый тюлень					
1	51.70 ± 1.83	8.03 ± 0.20	0.150 ± 0.002	0.855 ± 0.010	1.79 ± 0.04
2	48.60 ± 1.25	7.82 ± 0.10	0.195 ± 0.015	0.861 ± 0.011	1.74 ± 0.02
3	45.56 ± 0.80	7.59 ± 0.07	0.156 ± 0.006	0.865 ± 0.003	1.68 ± 0.02
4	47.16 ± 0.99	7.73 ± 0.08	0.086 ± 0.009	0.817 ± 0.008	1.66 ± 0.02
5	44.53 ± 0.18	7.51 ± 0.01	0.155 ± 0.038	0.855 ± 0.003	1.65 ± 0.01

Таблица 2. Морфометрические параметры эритроцитов взрослых морских млекопитающих

Вид	Площадь, мкм ²	Диаметр, мкм	Оптическая плотность, у. е.	Масса тела, кг **	Глубина погружения, м**
Гренландский тюлень	51.40 ± 0.92*	8.07 ± 0.19	0.189 ± 0.011	130–150	До 200
Серый тюлень	44.53 ± 0.18	7.51 ± 0.01	0.155 ± 0.038	150–300	До 700
Морской заяц	64.44 ± 0.98*	9.03 ± 0.23*	0.167 ± 0.042	220–280	До 220
Кольчатая нерпа	55.08 ± 0.12*	8.35 ± 0.08*	0.108 ± 0.009	40–80	До 500
Афалина	51.12 ± 0.53*	8.02 ± 0.08	0.279 ± 0.023	150–300	До 300

Примечания.

* Статистически достоверные различия по сравнению с показателями серых тюленей;

** Литературные источники (Атлас ..., 1980; Бурдин и др., 2009; Володина, Федорова, 2015; Гренландский тюлень ..., 2001).

ни у щенков наблюдается повышение в крови числа крупных эритроцитов (с диаметром более 8 мкм, макроцитоз до 75%), сфероцитов (до 4%) и стоматоцитов (до 1%), встречаются единичные ядерные эритроциты, ретикулоциты и необратимые формы эритроцитов. Известно, что количество эритроцитов и концентрация гемоглобина у новорожденных морских млекопитающих также высокие. На следующих возрастных этапах, когда животные набирают вес и начинают регулярно погружаться под воду для добывания корма, число эритроцитов снижается. При этом с возрастом увеличиваются среднее содержание гемоглобина в эритроците и средний объем эритроцита, что обеспечивает необходимые кислородные запасы (Коорман et al., 1995; Shirai, Sakai, 1997; Burns et al., 2007; Yochem et al., 2008). Данные изменения являются физиологической нормой и связаны с формированием костномозгового кроветворения и возникновением адаптационных реакций к среде обитания.

Для щенков тюленей в возрасте 3–4 месяцев характерна низкая степень насыщенности эритро-

цитов гемоглобином (наблюдается снижение показателей оптической плотности). Вероятно, в период голодания после ювенильной линьки процессы синтеза гемоглобина и других белков замедлены, и при переходе тюленей к подводному плаванию (в поисках пищи) запасы гемоглобина недостаточны для длительной задержки дыхания во время ныряния. Это согласуется с литературными данными. Так, количество кислорода в крови и мышцах взрослых животных (у гренландского тюленя и тюленя-хохлача) достоверно выше, чем у щенков (Burns et al., 2007).

Афалины в сравнении с другими рассмотренными ластоногими отличаются только тем, что их эритроциты имеют интенсивную окраску, а их абсолютные размеры близки к таковым у гренландского тюленя (табл. 2). Самые крупные эритроциты характерны для взрослых особей морского зайца, клетки наименьшего диаметра и площади отмечены у серого тюленя. Также у серого тюленя выявлены самые низкие морфометрические показатели, характеризующие форму клеток: форма-

фактор и неровность контура (табл. 1). Как правило, изменение формы дискоцитов идет параллельно с изменением размеров, так, микроцитоз у данных животных сопровождается увеличением в кровяном русле неправильных форм эритроцитов (в частности, появлением каплевидных и осколочных форм, а также деформированных соседними расположенными на мазке эритроцитами), что говорит о непрочном цитоскелете клеток.

Показано, что у кольчатой нерпы, которая среди исследуемых животных имеет самый маленький вес и для которой характерно погружение на достаточно большую глубину (табл. 2), эритроциты средние по размеру. У серого тюленя, способного покорять еще большие глубины, отмечены самые мелкие эритроциты. Известно, что среди тихоокеанских ластоногих по процентному содержанию эритроцитов нет достоверных различий между крупными животными (морж (вес 900–1100 кг), сивуч (вес 600–700 кг)) и более мелкими (лахтак, крылатка, ларга, акиба) (Соколов, 1966).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в крови тюленей всех возрастных групп преобладают нормальные (по форме и размеру) эритроциты. У новорожденных особей наблюдаются повышенное содержание числа эхиноцитов и сфероцитов и, как следствие, числа макроцитов, а также повышенная оптическая плотность эритроцитов. С рождения и до 3–4-месячного возраста у щенков серого и гренландского тюленей изменяются размеры и форма эритроцитов, что говорит об их физиологических и индивидуальных особенностях. В целом, морфометрические параметры эритроцитов крови гренландского и серого тюленей сходны и имеются лишь незначительные возрастные и межвидовые различия.

Не выявлены межвидовые различия по диаметру эритроцитов при сравнении взрослых ластоногих и китообразных. Не установлена зависимость между диаметром красных кровяных клеток и массой тела и глубиной погружения для пяти рассмотренных нами видов. Известно, что способность морских млекопитающих к длительному пребыванию под водой обеспечивается большим объемом и высокой кислородной емкостью крови (McPhee et al., 2003; Qvist et al., 1986).

Изучение гематологических показателей у китообразных и ластоногих, особенно в ранние периоды постнатального онтогенеза, необходимо для оценки перспектив развития популяций этих видов и выявления причин естественной смертности в стаде. Эти данные также могут быть использованы в ветеринарной практике, в оценке хода реабилитации и при длительном содержании животных в условиях неволи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас морских млекопитающих СССР, 1980. М.: Пищевая промышленность. 184 с.
- Бурдин А.М., Филатова О.А., Хойт Э., 2009. Морские млекопитающие России: справочник определитель. Киров: ОАО “Кировская областная типография”. 208 с.
- Володина В.В., Федорова Н.Н., 2015. Клеточный состав периферической крови каспийского тюленя (*Phoca caspica*, Gmelin, 1788) // Международный вестник ветеринарии. № 1. С. 57–60.
- Гренландский тюлень: современный статус вида и его роль в функционировании экосистем Белого и Баренцева морей, 2001. Мурманск: ООО “МИП-999”. 220 с.
- Кавцевич Н.Н., Ерохина И.А., 1996. Биохимические и цитологические исследования морских млекопитающих в Арктике. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 169 с.
- Калабухова Т.Н., 2005. Оценка размеров эритроцитов зимоспящего суслика *Citellus undulatus* Pallas // Биофизика. Т. 50. № 2. С. 376–377.
- Кондаков А.А., 1999. Серый тюлень Мурманского побережья // Адаптация и эволюция живого населения полярных морей в условиях океанического перигляциала. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. С. 270–315.
- Коржуев П.А., Глазова Т.Н., 1968. Сравнительно-физиологическая характеристика крови и кроветворных органов рыб и водных млекопитающих // Биология моря. № 15. С. 131–146.
- Мисюра А.Г., Богданова Л.Н., 1997. Система крови черноморской афалины // Черноморская афалина *Tursiops truncatus ponticus*: морфология, физиология, акустика, гидродинамика. М.: Наука. С. 186–213.
- Предтеченский В.Е., 1960. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. Под ред. Л.Г. Смирновой и Е.А. Кост. М.: Медгиз. С. 964.
- Светочев В.Н., Светочева О.Н., 1998. Морфологические параметры нерпы Белого и Баренцева морей // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. Материалы VII Междунар. конференции, Санкт-Петербург, 1998. С. 195–197.
- Соколов А.С., 1966. Эколого-функциональные и возрастные особенности красной крови у северо-тихоокеанских ластоногих // ДАН СССР. Т. 169. № 3. С. 683–684.
- Соколова О.В., Денисенко Т.Е., 2006. Иммуно-микробиологические исследования в экологическом аспекте у некоторых видов морских млекопитающих // Морские млекопитающие Голарктики. Сборник научных трудов по материалам 4 Междунар. конференции, Санкт-Петербург, 10–14 сент., 2006. СПб. С. 487–492.
- Сыкало А.И., 1989. Информационные аспекты эволюции гидробионтов и антропогенный пресс // Физиология морских животных. Тез. докл. Всерос. конференции, г. Мурманск, 1989 г. Апатиты. С. 113.
- Урбах В.Ю., 1963. Математическая статистика для биологов и медиков. Москва: Изд-во Акад. наук СССР. 323 с.

- Чанский К.К., 1952. К методике определения возраста млекопитающих // Известия Естеств.-науч. ин-та им. П.Ф. Лесгафта. Т. 52.
- Burns J.M., Lestyk K.C., Folkow L.P., Hammill M.O., Blix A.S., 2007. Size and distribution of oxygen stores in harp and hooded seals from birth to maturity // J. Comp. Physiol. B. Vol. 177. № 6. P. 687–700.
- Cavagnolo R.Z., 1979. The immunology of marine mammals // Developmental and Comparative Immunology. Vol. 3. № 2. P. 245–257.
- Clark P., Boardman W.S., Duignan P.J., 2002. Cytology of haematological cells of otariid seals indigenous to Australasian waters // Australian Veterinary Journal. Vol. 80. № 3. P. 161–164.
- DeMonte T., Pilleri G., 1979. Cetacean hematology. II. The blood cells // Invest. Cetacea. Vol. 10. P. 289–306.
- Geraci J.R., Smith T.G., 1975. Functional hematology of ringed seals (*Phoca hispida*) in the Canadian arctic // Journal of the Fisheries Research Board of Canada. Vol. 32. P. 2559–2564.
- Gregory T.R., 2005. Cell size database. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.genome-size.com/cellsize/mammals.htm>. Дата обновления: 03.02.2004.
- Kizhina A.G., Kalinina S.N., Uzenbaeva L.B., Panchenko D.V., Lapinski St. et al., 2020. Comparative study of erythrocyte morphology and size in relation to ecophysiological adaptations in rodentia species // Russian Journal of Theriology. Русский териологический журнал. Т. 19. № 2. С. 161–171.
- Kostelecka-Myrcha A., 2002. The ratio of amount of haemoglobin to total surface area of erythrocytes in mammals // Acta Theriologica. Vol. 47. P. 209–220.
- Koopman H.N., Westgate A.J., Read A.J., Gaskin D.E., 1995. Blood chemistry of wild harbor porpoises *Phocoena phocoena* (L.) // Marine Mammal Science. Vol. 11. № 2. P. 123–135.
- McPhee J.M., Rosen D.A.S., Andrews R.D., Trites A.W., 2003. Predicting metabolic rate from heart rate in juvenile Steller sea lions *Eumetopias jubatus* // J. Experimental Biol. Vol. 206. P. 1941–1951.
- Ovist J., Hill R.D., Schneider R.C., Falke K.J., Liggins G.C., Guppy M. et al., 1986. Hemoglobin concentrations and blood gas tensions of free-diving Weddell seals // Appl. Physiol. Vol. 61. P. 1560–1569.
- Ridgway S.H., Simpson J.G., Patton G.S., Gilmartin W.G., 1970. Hematologic findings in certain small cetaceans // J. Am. Vet. Med. Assoc. Vol. 157. № 5. P. 566–575.
- Ronald K., Foster M.E., Johnson E., 1969. The harp seal, *Pagophilus groenlandicus* (Erxleben, 1777). II. Physical blood properties // Canadian Journal of Zoology. № 3. P. 461–468.
- Shirai K., Sakai T., 1997. Haematological findings in captive dolphins and whales // Australian Veterinary Journal. Vol. 75. № 7. P. 512–514.
- Unruh K.D., 2018. Evaluating how behavioral, environmental and physiological factors have influenced the evolution of mammalian erythrocyte size. PhD Dissertation. Long Beach: California State University. 81 p.
- Yochem P.K., Stewart B.S., Mazet J.A.K., Boyce W.M., 2008. Hematologic and serum biochemical profile of the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*): Variation with age, sex, and season // Journal of Wildlife Diseases. Vol. 44. № 4. P. 911–921.

MARINE MAMMALS: MORPHOMETRIC PARAMETERS OF ERYTHROCYTES

T. V. Seliverstova*

Murmansk Marine Biological Institute, Kola Scientific Centre,
Russian Academy of Sciences, Murmansk, 183010 Russia

*e-mail: minzyuk@mail.ru

Morphological and morphometric parameters of erythrocytes (size, shape and color) were studied in five species of marine mammals. A comparative assessment of oxygen reserves in the blood of the Harp (*Pagophilus groenlandicus* (Erxleben 1777)) and in Grey seal (*Halichoerus grypus* (Fabricius 1791)) puppies during adaptations to the aquatic environment, as well as of Bottlenose dolphins during the period of adaptation to captivity conditions is given. Morphometric parameters of red blood cells has been established to vary depending on the age, habitat conditions and phylogenetic position of the animals.

Keywords: seals, dolphins, blood cells, size, shape