

Е.А. Колесник¹ ✉
М.А. Дерхо²
М.Б. Ребезов^{3, 4}

¹Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

²Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия

³Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

⁴Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉ evgeniy251082@mail.ru

Поступила в редакцию:
10.11.2023

Одобрена после рецензирования:
25.12.2023

Принята к публикации:
10.01.2024

Research article

DOI: 10.32634/0869-8155-2024-378-1-65-74

Evgeniy A. Kolesnik¹ ✉
Marina A. Derkho²
Maksim B. Rebezov^{3, 4}

¹Russian State Agrarian University — Moscow State Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia

²South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia

³V.M. Gorbатов Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

✉ evgeniy251082@mail.ru

Received by the editorial office:
10.11.2023

Accepted in revised:
25.12.2023

Accepted for publication:
10.01.2024

Формы дегенерации клеток крови, их физиологическое и клиническое значение, механизмы образования, тени клеток в мазках крови птиц

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Представлен обзор закономерностей появления, физиологического и клинического значения теней клеток, сравнительный экспериментальный цитоморфологический анализ на примере полихроматофильных эритробластов (*PolyErythro*), теней эритробластов (*ShadErythro*) и недифференцированных теней клеток в мазках периферической крови кур *Gallus gallus* L. кросса *Hubbard ISA F15* раннего онтогенеза.

Методы. Исследованные особи были разделены на четыре группы ($n = 40$) в зависимости от возраста цыплят (*Postembryonalis* — *P1*, *P7*, *P23* и *P42*): 1, 7, 23 и 42 дня постэмбрионального онтогенеза) промышленного стада. Осуществляли характеристику апоптотических изменений *ShadErythro*, недифференцированных теней клеток. Вычисляли и характеризовали морфобиологические параметры *PolyErythro*, *ShadErythro* и неидентифицированных теней клеток по выполненным цветным с высоким разрешением микрофотографиям в мазках крови цыплят-бройлеров (окрашенных по Паппенгейму). Всего было проанализировано 158 ($n = 158$) микрофотографий.

Результаты. Структурированные *ShadErythro* были в состоянии хроматинизации. Неидентифицированные тени клеток находились в состоянии цитолиза, фрагментации цитоплазмы, отмечались кариопикноз и кариорексис, фрагментация хроматина, кариолизис. Структурированные *ShadErythro* и недифференцированные тени клеток имели светло-пурпурный цвет с красноватым оттенком. Регистрировалась значительная разница площади *ShadErythro* (S_{shadow} , μm^2), превосходящей площадь *PolyErythro* (S_{cell} , μm^2), в пределах 25% ($p \leq 0,001$), превышение процента различия минимальных от максимальных значений площади *ShadErythro* ($P_{shad-cell-differ.-min-max}$, %) от $P_{cell-differ.-min-max}$, % *PolyErythro* составило 36% ($p \leq 0,001$). Разница процента различия минимальных от максимальных значений площади ядра эритробластов ($P_{nucleus-differ.-min-max}$) и тени ядра эритробластов ($P_{shad-nucle.-differ.-min-max}$) достоверно меньше аналогичных величин (отмеченных выше) по клеткам и теням эритробластов. Так, $P_{nucleus-differ.-min-max}$ превышал $P_{shad-nucle.-differ.-min-max}$ только на 21% ($p \leq 0,001$). Процент различия минимальных от максимальных значений ядерно-цитоплазматического соотношения *ShadErythro* ($P_{N/C Ratio-shad-cell}$) существенно превышал аналогичную величину *PolyErythro* ($P_{N/C Ratio}$) в пределах 64% ($p \leq 0,001$). При этом ядерно-цитоплазматическое соотношение *PolyErythro* ($N/C Ratio$) и *ShadErythro* ($N/C Ratio$) имело сравнительно минимальное различие. Ядерно-цитоплазматическое соотношение *ShadErythro* ($N/C Ratio-shad-cell$) превышало ядерно-цитоплазматическое соотношение *PolyErythro* ($N/C Ratio$) только на 12% ($p \leq 0,001$). *ShadErythro* максимально представлены у цыплят в возрасте *P1* — 40%, до 30% ($p \leq 0,05$) — в *P23*. В *P7* количество *ShadErythro* снижалось на 30% ($p \leq 0,05$), в *P42* регистрировалось понижение *ShadErythro* до 20% ($p \leq 0,05$). Охарактеризованная динамика *ShadErythro* обусловлена физиологическими адаптационными процессами организма бройлерных кур в раннем периоде постэмбрионального онтогенеза. Полученные данные комплексного сравнительного морфобиологического анализа форм дегенерации клеток крови будут полезными в клинической диагностике патологий животных, экспериментальных и теоретических изысканиях клеточных адаптаций системы крови и целостного организма.

Ключевые слова: эритробласты, полихроматофильные эритробласты, тени эритробластов, тени клеток, тень ядра, апоптоз, эритроцитоз, ядерно-цитоплазматическое соотношение, морфология крови, цыплята-бройлеры

Для цитирования: Колесник Е.А., Дерхо М.А., Ребезов М.Б. Формы дегенерации клеток крови, их физиологическое и клиническое значение, механизмы образования, тени клеток в мазках крови птиц. *Аграрная наука*. 2024; 378(1): 65–74. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-65-74>

© Колесник Е.А., Дерхо М.А., Ребезов М.Б.

Forms of degeneration of blood cells, their physiological and clinical significance, mechanisms of formation, shadows of cells in blood smears of birds

ABSTRACT

Relevance. An overview is presented of the patterns of appearance, physiological and clinical significance of shadows of cells, a comparative experimental cytomorphological analysis using the example of polychromatophilic erythroblasts (*PolyErythro*), shadows of erythroblast (*ShadErythro*) and undifferentiated shadows cells of in peripheral blood smears of chickens *Gallus gallus* L.

Methods. The studied individuals were divided into four groups ($n = 40$) depending on the age of the chickens (*Postembryonalis* — *P1*, *P7*, *P23*, and *P42*): 1, 7, 23, and 42 days of postembryonic ontogenesis) of a factory herd. *ShadErythro* apoptotic changes, undifferentiated cell shadows were characterized. Were calculated and characterized the morphophysiological parameters of *PolyErythro*, *ShadErythro* and unidentified shadows of cells by high-resolution color microphotographs in blood smears of birds (Pappenheim stained); a total of 158 ($n = 158$) microphotographs were analyzed.

Results. The structured *ShadErythro* were able in chromatinized. Unidentified shadows of cells were in a state of cytolysis, fragmentation of the cytoplasm, karyopycnosis and karyorrhexis, chromatin fragmentation, and karyolysis were noted. Structured of *ShadErythro* and undifferentiated shadows of cells were light purple with a reddish tint. Significant difference in the area of *ShadErythro* (S_{shadow} , μm^2) was recorded in the ascending area of *PolyErythro* (S_{cell} , μm^2), within 25% ($p \leq 0,001$), an increase in the percentage of difference between the minimum and maximum values of the *ShadErythro* area ($P_{shad-cell-differ.-min-max}$, %) of $P_{cell-differ.-min-max}$, % *PolyErythro* was 36% ($p \leq 0,001$). The difference in the percentage difference between the minimum and maximum values of the area of the nucleus of erythroblasts ($P_{nucleus-differ.-min-max}$) and the shadows of the nucleus of erythroblasts ($P_{shad-nucle.-differ.-min-max}$) is significantly less than the analogous values (noted above) for cells and shadows erythroblasts, for example, $P_{nucleus-differ.-min-max}$ exceeded $P_{shad-nucle.-differ.-min-max}$ by only 21% ($p \leq 0,001$). The percentage of difference between the minimum and maximum values of the nuclear-cytoplasmic ratio *ShadErythro* ($P_{N/C Ratio-shad-cell}$) significantly exceeded the analogous value of *PolyErythro* ($P_{N/C Ratio}$) within 64% ($p \leq 0,001$). At the same time, the nuclear-cytoplasmic ratio of *PolyErythro* ($N/C Ratio$) and *ShadErythro* ($N/C Ratio$) had a relatively minimal difference. The *ShadErythro* nuclear-cytoplasmic ratio ($N/C Ratio-shad-cell$) exceeded the *PolyErythro* nuclear-cytoplasmic ratio ($N/C Ratio$) by only 12% ($p \leq 0,001$). *ShadErythro* is maximally represented in chickens aged *P1* — 40% and up to 30% ($p \leq 0,05$) in *P23*. In *P7*, the amount of *ShadErythro* decreased by 30% ($p \leq 0,05$), in *P42*, a decrease in *ShadErythro* to 20% ($p \leq 0,05$) was recorded. The described dynamics of *ShadErythro* is due to physiological adaptive processes in the body of broiler chickens in the early period of postembryonic ontogenesis. The data obtained by us from a comprehensive comparative morphophysiological analysis of forms of degeneration of blood cells will be useful in the clinical diagnosis of animal pathologies, experimental and theoretical studies of cellular adaptations of the functional blood system and the whole organism.

Key words: erythroblasts, polychromatophilic erythroblasts, shadows of erythroblasts, shadows of cells, shadows of nucleus, apoptosis, eryptosis, nuclear-cytoplasmic ratio, blood morphology, broiler chickens

For citation: Kolesnik E.A., Derkho M.A., Rebezov M.B. Forms of degeneration of blood cells, their physiological and clinical significance, mechanisms of formation, shadows of cells in blood smears of birds. *Agrarian science*. 2024; 378(1): 65–74 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-65-74>

© Kolesnik E.A., Derkho M.A., Rebezov M.B.

Введение/Introduction

С развитием проточной цитометрии ускоряется общий клинический анализ морфологии крови, особенно в гуманной медицине. Однако существующие на сегодняшний день методики проточной цитометрии имеют множество ограничений и особенностей реализации их на практике. Данным методом невозможно индивидуальное выявление в функциональной морфологии как физиологических, так и патологических изменений в клетках крови.

В биологии и ветеринарной медицине в связи с большой вариабельностью морфофизиологии клеток крови тотальным пулом ядерных клеток, как в организме рыб (*Pisces*), амфибий (*Amphibia*), рептилий (*Reptilia*), так и птиц (*Aves*), ведущим методом анализа является изучение картины в мазках клеток периферической крови и костного мозга [1–3]. При этом птицы представляют собой прогрессивный класс позвоночных животных, имеющих схожие черты как с млекопитающими (полная гомойотермность физиологически зрелого организма), так и с пресмыкающимися (тотальная ядерность клеток крови, включая ядерные тромбоциты, обладающие способностью к фагоцитозу) [4–6].

Птицам (и особенно птенцам в ювенальном постнатальном онтогенезе) свойственна нормальная циркуляция в периферической крови эритробластов различных групп зрелости, в том числе базофильных (в самом раннем периоде) и полихроматофильных (более продолжительное время) [1–8]. В связи с этим птицы являются важной репрезентативной моделью изучения многих биологических процессов онтогенеза, процессов адаптации организма к нормальным и патологическим факторам среды жизнедеятельности [9–12].

В процессе морфологического анализа крови животных и человека исследователь изучает форменные элементы, в то же время в картине мазков, особенно у птиц, могут нередко встречаться так называемые тени клеток, являющиеся формами и стадиями дегенеративных изменений и завершения жизни клеток периферической крови и костного мозга [4–6].

Возникают закономерные вопросы, каким образом развиваются подобные дегенеративные изменения форменных элементов, каковы их молекулярные биохимические механизмы, почему тени бластных клеток оказываются в картине периферической крови животных (и особенно у птиц).

Какое клиническое значение могут иметь данные изменения структуры цитоплазмы и ядра клеток крови? Известно, что тени клеток (*shadow cells*, *smudge cells*) формируются в результате запрограммированной стадийной гибели клетки — апоптоза [13–17].

Для нормальной крови птиц в мазках характерно наличие фигур дегенерации ядер и клеток, то есть теней ядер, теней клеток (*shadow cells*, *smudge cells*) [3–6]. Это свидетельствует о большой структурной лабильности, «хрупкости» клеток крови птиц [4–6]. В принципе характеризует сравнительно высокую физиологическую активность форменных элементов крови птиц, которая наиболее свойственна раннему периоду после рождения, то есть ювенальному постэмбриональному онтогенезу птенцов [4]. Соответственно, в мазках крови молодых птиц часто встречаются истинные не артефактные тени — формы дегенерации клеток [4–6].

Дегенеративным изменениям путем апоптоза с образованием теней клеток подвергаются эритробласты, лимфобласты, миелобласты, эритроциты и лейкоциты. Какое физиологическое и клиническое значение

апоптоза в *shadow cells* и *smudge cells*? Дело в том, что механизмами апоптоза, во-первых, происходит физиологическая компенсационная и (или) адаптационная регуляция численности пула как бластных клеток (эритробластов, лимфобластов и миелобластов), так и зрелых эритроцитов и лейкоцитов [14, 16–20]. Во-вторых, вследствие патологических процессов самых различных нозологий (инфекционных, инвазионных и незаразных болезней) путем запуска апоптоза или его эндогенной блокировки изменяется численность бластных и зрелых форменных элементов — как в сторону уменьшения концентрации, так и роста количества клеток в русле периферической крови [13, 19, 21].

Экспериментально полученные тени клеток крови применяют в качестве маркеров воздействия индуцированного излучения на форменные элементы *in vitro* [22]. Тени эритроцитов *in vitro* применяли в качестве модельных объектов при изучении воздействия токсических концентраций фармакологических веществ на биологические объекты [23]. При этом в литературе гуманной медицины имеются разрозненные сведения по физиологическому и клиническому значению *shadow cells* и *smudge cells*. В литературе ветеринарной медицины представлены единичные подобные сведения и приводятся единичные микрофотографии теней клеток крови с их морфофизиологической характеристикой.

Цели работы — обзор закономерностей появления, физиологического и клинического значения теней клеток, сравнительный цитоморфологический анализ на примере полихроматофильных эритробластов, теней эритробластов и недифференцированных теней клеток в мазках периферической крови кур *Gallus gallus* L. раннего онтогенеза.

J. Ma *et al.* [16] отмечают, что эндогенный апоптоз эритробластов является нормальным (физиологическим) механизмом регуляции концентрации созревающих и зрелых эритроцитов в периферической крови.

Было установлено, что при хронической горной болезни развивающийся эритроцитоз у пациентов вызван эндогенным компенсационным подавлением физиологического апоптоза эритробластов в костно-мозговом пуле [16].

Авторы [16] отмечают один из основных механизмов подавления физиологического апоптоза эритробластов посредством внутриклеточных белковых факторов BCL-2.

Было показано, что факторы BCL-2 противодействовали коллапсу внешней митохондриальной мембраны эритробластов и таким образом способствовали сохранению целостности и функциям внешних митохондриальных мембран, повышался митохондриальный мембранный потенциал эритробластов, вследствие этого существенно снижался физиологический регулируемый апоптоз эритробластов [16]. Доказано, что мембранно-протективный механизм в сохранении целостности митохондрий клеток крови у белков BCL-2 заключается в том, что белки BCL-2 блокируют перекисное окисление липидной мембраны митохондрий, таким образом противодействуя запуску каскада апоптогенных ферментов — каспаз [16].

Необходимо уточнить: белковые факторы BCL-2 подразделяются на группы собственно BCL-2 и BCL-XL, ингибирующие апоптоз эритробластов, и Bax, Bid, Bad, BCL-XS, Bak, которые, наоборот, способствуют апоптозу эритробластов [16].

J. Ma *et al.* [16] отмечают, что белковый фактор гипоксии HIF-1a уменьшает экспрессию фактора Bax

и увеличивает продукцию собственно BCL-2, таким образом, у пациентов с хронической горной болезнью снижался физиологический апоптоз эритробластов, вследствие этого формировался компенсационный адаптационный гипоксический эритроцитоз. Однако в практически обратном процессе (при экспериментальной анемии) путем апоптоза элиминируются поврежденные, аномальные, то есть дисфункциональные, эритробласты и эритроциты [19].

A. Diwan *et al.* отмечают один из важных аутогенных механизмов компенсации анемии [19]. Так, при развитии анемии путем регуляторного апоптоза могут элиминироваться субпопуляции ранних эритробластов с низкой рецепторной чувствительностью к эритропоэтину [19].

По данным [13], модельная миелома у мышей V κ *MYK (*Mus musculus*) провоцировала развитие апоптоза эритробластов. Так, как было показано авторами, злокачественные плазматические клетки экспрессировали лиганд апоптогенных рецепторов Fas/Fas-L, соответственно, вследствие этого продуцировался активный фермент каспаза (семейство цистеиновых протеаз [15]), которая индуцировала апоптоз эритробластов в костном мозге [13]. В результате апоптоза эритробластов, как было установлено авторами, развивалась железодефицитная анемия в организме модельных мышей V κ *MYK с активным вторичным конкурентным поглощением ионов железа макрофагами в строме костного мозга [13].

Предложен новый термин для обозначения физиологической, регуляторной дегенерации и гибели эритробластов и эритроцитов — эриптоз [18, 20]. По механизму действия эриптоз схож с апоптозом. Также ведущими молекулярными агентами эриптоза являются Fas-рецепторы на мембране эритроцитов и эритробластов, каскад ферментов — каспаз [20].

Особенностью эриптоза является процесс лавинного тока ионов кальция в цитозоль эритробластов и эритроцитов вследствие активации протеинкиназы C и фосфорилирования катионных каналов плазмалеммы [20]. Открывание Ca²⁺-зависимых K⁺-каналов приводит к выходу из клеток ионов K⁺, а следовательно, и анионов Cl⁻, и молекул воды, что приводит к сжатию эритробластов и эритроцитов и, соответственно, их дисфункции при эриптозе [20].

Необходимо отметить, что апоптоз циркулирующих лейкоцитов, в том числе полиморфно-ядерных, в норме — это физиологический процесс регуляции численности популяции белых клеток крови [15].

Было установлено гомеостатическое регуляторное значение апоптоза дисфункциональных лимфоцитов для корректного функционирования системы иммунитета [17].

K. Newton *et al.* [17] отмечают, что физиологическим апоптозом элиминируются лимфоциты, которые не могут экспрессировать рецепторы антигенов, а также ликвидируются агранулоциты с рецепторами антигенов, которые распознают аутоантигены. Таким образом, сохраняется соматическая ауто толерантность [17]. Также элиминируются лимфоциты, которые израсходовали свои метаболические ресурсы в иммунологическом процессе [17].

При патологиях различной этиологии диагностируют выраженный апоптоз лейкоцитов. B.L. Jaber *et al.* [15] отмечали у пациентов с хронической почечной недостаточностью апоптоз лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов.

Тени лимфоцитов и лимфобластов в клинической диагностике, а именно тени Боткина — Гумпрехта,

являются патоморфологическими маркерами хронического лимфолейкоза [21]. Также апоптозные тени клеток крови могут быть разрушены предшественниками гранулоцитарного звена, в том числе миелоцитами и «эритроцитарного роста». В этом случае данные патоморфологические элементы могут служить маркерами острого и хронического миелолейкоза, гемолитической анемии [24].

Однако необходимо отметить, что тени лимфоцитов, лимфобластов, миелоцитов и эритробластов в диагностике онкологических нозологий являются только одним из клинических звеньев, так как тени клеток крови и костного мозга могут появляться при многих инфекционных и инвазионных процессах, не связанных с онкологическими болезнями [2, 24].

Молекулярно-сигнальные и ферментативные механизмы апоптоза лейкоцитов во многом аналогичны с таковыми при апоптозе эритробластов [13–16, 18–20].

Установлено, что апоптоз лейкоцитов (и в частности, гранулоцитов) может происходить по механизму, обусловленному воздействием на клетки крови супероксид-радикалов, продуцируемых вследствие стресс-факторов или физиологических эндогенных причин, в том числе нормальному фагоцитозу, свойственному функциям моноцитов и гранулоцитов в периферической крови [15]. При этом основным клеточным источником супероксид-радикалов и других активных форм кислорода являются митохондрии в клетках крови [15].

Характеризуют следующий механизм запуска оксигенозависимого апоптоза. Вследствие того, что супероксид-радикалы и другие активные формы кислорода окисляют фосфолипиды внешней мембраны митохондрий, происходит нарушение целостности мембраны и повышение ее проницаемости [15]. Благодаря этому цитохром C, митохондриальный гемовый белок, необходимый для функций дыхательной ферментативной цепи митохондрий, может проникать в цитозоль (цитоплазму клеток крови), где он способен соединяться с ICE-подобной протеазой [15]. Далее этот ферментный комплекс активирует каскад ферментов — каспаз, обеспечивающих в итоге процессы апоптоза на морфологическом уровне [15].

Тени клеток крови являются актуальными биомедицинскими модельными объектами. Так, авторы [23] использовали в качестве модели тени эритроцитов лабораторных млекопитающих (*Mammalia*), искусственно (особым образом) полученные с сохранением бислойного фосфолипидного матрикса. Данные модельные тени эритроцитов служили субстратом для оценки концентрационного диапазона химических веществ (мелатонина, фенотана, феноксана и подобных биологически активных веществ), не вызывающего деструкцию в биологических объектах [23].

В эксперименте аппаратной ультразвуковой деструкцией *in vitro* клеток крови у клинически здоровых непарнокопытных (*Perissodactyla*), в том числе лошадей спортивного типа (*Equidae s. Solidungula*), получали тени гранулярных и агранулярных лейкоцитов, а также эритроцитов [22].

A.A. Солдатов *с соавт.* [25] изучали эритроцитарный профиль периферической крови морской рыбы (*Neogobius melanostomus*) в условиях экспериментальной гипотермии, в циркулирующей крови рыб отмечались тени эритроцитов (*red blood cell smudges*). Однако, по сведениям авторов [25], достоверных различий в циркуляции теней эритроцитов (*smudge cells*) в контрольной и опытной (в условиях переохлаждения) группах не было установлено.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Исследования проведены в соответствии с принципами гуманного обращения с подопытными животными, изложенными в директивах Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях (Директива № 2010/63/EU).

Экспериментальная часть работы выполнена на ООО «Чебаркульская птица» (Чебаркульский р-н, Челябинская обл., Россия).

Объектом исследования служили бройлерные цыплята *Gallus gallus* L. кросса *Hubbard ISA F15* промышленного стада, из которых в цехе выращивания (клеточное содержание), согласно принципам случайной выборки и сбалансированных групп, сформировали четыре группы ($n = 40$). Возраст цыплят в каждой из групп составил 1, 7, 23 и 42 дня постэмбрионального онтогенеза (*Postembryonalis*) — *P1*, *P7*, *P23* и *P42* соответственно.

Экспериментальные группы кур *Gallus gallus* L. по *Anamnesis vitae* клинически (*status praesens*) соответствовали *fusce sanitas status* — статусу здоровых животных.

Кормление и содержание цыплят осуществляли в соответствии с зоогигиеническими нормами согласно рекомендациям (руководство *Hubbard ISA*¹).

Материалом исследований служила цельная кровь, которую собирали в стандартизированные вакуумные пробирки с ЭДТА путем декапитации цыплят-бройлеров в суточном и 7-суточном возрасте и прижизненно — пункцией подкрыльцовой вены у 23- и 42-дневных цыплят [26].

Окраску мазков крови производили по Паппенгейму (*A. Pappenheim*) [27].

Микрофотографии были получены с помощью биологического микроскопа МББ-1А («ЛОМО», Россия), оснащенного микрографической окулярной видеокамерой с матрицей разрешением 5 мегапикселей (Full HD High resolution HAYEAR CMOS 5.0 Megapixel microscope video camera, КНР) с визуализацией в программе *ToupView*² (*ToupTek Photonics*, КНР) [7, 8], с построенной светодиодной системой освещения микрореапаратов белым спектром (реализован принцип Кёлера (*A. Köhler*) [7, 8, 27]. Для наиболее качественного изображения клеток крови применяли 90-кратный апохроматический объектив масляной иммерсии с апертурой 1,3 («ЛОМО», Россия), который позволяет получать микрофотографии со специальной коррекцией хроматических аберраций.

Калибровку видеокамеры производили по шкале объект-микрометра для проходящего света с ценой деления 0,01 мм («ОМП», «ЛОМО», Россия) в программе *ToupView*. На предмет изучения учитываемых клеток крови и теней клеток произведен анализ 158 ($n = 158$) выполненных микрофотографий полей зрения с форменными элементами периферической крови.

В программе *PhotoM 1.21*³ (Россия) [7, 8] определяли следующие величины:

- S_{cell} , μm^2 — площадь клетки, μm^2 ;
- $S_{nucleus}$, μm^2 — площадь ядра клетки, μm^2 ;
- S_{shadow} , μm^2 — площадь тени клетки, μm^2 ;
- $S_{shad.-nucleus}$, μm^2 — площадь тени ядра клетки, μm^2 .

По полученным цитоморфологическим величинам вычисляли следующие показатели в программе *Microsoft Office Excel 2007* (*Microsoft Corporation*, США):

$S_{cell-min-max}$, μm^2 — минимальную и максимальную площадь клетки, μm^2 ;

$P_{cell-differ.-min-max}$, % — процент различия минимальных от максимальных значений площади клетки, %:

$$P_{cell-differ.-min-max} = \frac{(S_{cell-max}, \mu m^2 \times 100)}{S_{cell-min}, \mu m^2}, \quad (1),$$

где: $S_{cell-max}$, μm^2 — максимальная площадь клетки, μm^2 ; $S_{cell-min}$, μm^2 — минимальная площадь клетки, μm^2 ; $S_{nucleus-min-max}$, μm^2 — минимальная и максимальная площадь ядра клетки, μm^2 ;

$P_{nucleus-differ.-min-max}$, % — процент различия минимальных от максимальных значений площади ядра клетки, %:

$$P_{nucleus-differ.-min-max} = \frac{(S_{nucleus-max}, \mu m^2 \times 100)}{S_{nucleus-min}, \mu m^2}, \quad (2),$$

где: $S_{nucleus-max}$, μm^2 — максимальная площадь ядра клетки, μm^2 ; $S_{nucleus-min}$, μm^2 — минимальная площадь ядра клетки, μm^2 ;

N/C Ratio — ядерно-цитоплазматическое соотношение по формуле [8, 28]:

$$N/C \text{ Ratio} = \frac{S_{nucleus}, \mu m^2}{(S_{cell}, \mu m^2 - S_{nucleus}, \mu m^2)}, \quad (3),$$

$P_{N/C \text{ Ratio}}$ — процент различия минимальных от максимальных значений *N/C Ratio*, %:

$$P_{N/C \text{ Ratio}} = \frac{(N/C \text{ Ratio}_{-max}, (\%) \times 100)}{N/C \text{ Ratio}_{-min}, (\%)}, \quad (4),$$

где: $N/C \text{ Ratio}_{-max}$, % — максимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения клетки; $N/C \text{ Ratio}_{-min}$, % — минимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения клетки.

$S_{shad.-min-max}$, μm^2 — минимальная и максимальная площадь тени клетки, μm^2 ; $P_{shad.-cell-differ.-min-max}$, % — процент различия минимальных от максимальных значений площади тени клетки, %:

$$P_{shad.-cell-differ.-min-max} = \frac{(S_{shad.-max}, \mu m^2 \times 100)}{S_{shad.-min}, \mu m^2}, \quad (5),$$

где: $S_{shad.-max}$, μm^2 — максимальная площадь тени клетки, μm^2 ; $S_{shad.-min}$, μm^2 — минимальная площадь тени клетки, μm^2 ; $S_{shad.-nucle.-min-max}$, μm^2 — минимальная и максимальная площадь тени ядра клетки, μm^2 ;

$P_{shad.-nucle.-differ.-min-max}$, % — процент различия минимальных от максимальных значений площади тени ядра клетки, %:

$$P_{shad.-nucle.-differ.-min-max} = \frac{(S_{shad.-nucle.-max}, \mu m^2 \times 100)}{S_{shad.-nucle.-min}, \mu m^2}, \quad (6),$$

где: $S_{shad.-nucle.-max}$, μm^2 — максимальная площадь тени ядра клетки, μm^2 ; $S_{shad.-nucle.-min}$, μm^2 — минимальная площадь тени ядра клетки, μm^2 ;

N/C Ratio-shad.-cell — ядерно-цитоплазматическое соотношение тени клетки:

$$N/C \text{ Ratio-shad.-cell} = \frac{S_{shad.-nucleus}, \mu m^2}{(S_{shadow}, \mu m^2 - S_{shad.-nucleus}, \mu m^2)}, \quad (7).$$

¹ <http://hubbardbreeders.com>

² <http://www.toupTek.com/>

³ https://labx.narod.ru/documents/microscopy_programs.html

$P_{N/C \text{ Ratio-shad.-cell}}$ — процент различия минимальных от максимальных значений $N/C \text{ Ratio}_{\text{-shad.-cell}}$, %:

$$P_{N/C \text{ Ratio-shad.-cell}} = \frac{(N/C \text{ Ratio}_{\text{-shad.-cell-max}} (\%) \times 100)}{N/C \text{ Ratio}_{\text{-shad.-cell-min}} (\%)}, (8).$$

где: $N/C \text{ Ratio}_{\text{-shad.-cell-max}}$, % — максимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения тени клетки; $N/C \text{ Ratio}_{\text{-shad.-cell-min}}$, % — минимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения тени клетки.

В программе TourView определяли масштаб изображений, и на микрофотографиях размещали масштабную линейку с ценой деления в 10 микрометров (μm).

Все цифровые данные измеренных и проанализированных значений изучаемых параметров объекта исследования представлены средним арифметическим ($\bar{X}$) и стандартной ошибкой среднего — Standard Error Mean ($\pm \text{SEM}$). Гипотезу о том, что «случайные величины морфофизиологических параметров распределены нормально (распределение Гаусса)», проверяли критерием Шапиро-Уилка в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США).

Степень и достоверность различий для вычисленных цитоморфологических параметров полихроматофильных эритробластов и теней эритробластов оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента для индивидуальных выборок (*T-test, single sample*), степень и достоверность различий для величины количества (%) теней эритробластов в периферической крови птицы по возрастам (по отношению к возрасту первых суток *P1*) — с помощью параметрического t-критерия Стьюдента для парных сравнений в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США).

Критический уровень значимости различия значений при проверке статистических гипотез был принят за $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Выполнены микрофотографии высокого разрешения полихроматофильных эритробластов, структурированных теней эритробластов с сохранением профиля тени цитоплазмы и ядра и недифференцированных теней клеток в мазках периферической крови птицы (*Gallus gallus* L.) в 1-, 7-, 23- и 42-дневном периоде постнатального онтогенеза (рис. 1, 2).

Рис. 1. Периферическая кровь цыплят *Gallus gallus* L. (здесь и далее в скобках указан возраст цыплят-бройлеров, стрелкой показан обозначаемый объект). На микрофотографиях представлены тени клеток, полихроматофильные эритробласты, эритроциты, лимфоциты, гетерофилы. Полихроматофильные эритробласты — 1.1, 1.2, 1.3 (1-е сутки). На рис. 1.3 слева показана недифференцируемая аморфная тень клетки (cell smudge); тени эритробластов (erythroblast shadows) представлены структурированными формами с профилем тени цитоплазмы и ядра, erythroblast shadow — 1.4, 1.6, 1.8 (1-е сутки); erythroblast shadow — 1.7 (7-е сутки); erythroblast shadow — 1.5, 1.9 (23-й день). Цена деления масштабной линейки — 10 микрометров (10 μm)

Fig. 1. Peripheral blood of *Gallus gallus* L. chickens (here and further, the age of broiler chickens is indicated in parentheses, the arrow shows the designated object). The micrographs show cell shadows, polychromatophilic erythroblasts, erythrocytes, lymphocytes, and heterophiles. Polychromatophilic erythroblasts — 1.1, 1.2, 1.3 (1st day). Fig. 1.3 on the left shows an undifferentiated amorphous cell shadow (cell smudge); erythroblast shadows are represented by structured shapes with a profile of the shadow of the cytoplasm and nucleus, erythroblast shadow — 1.4, 1.6, 1.8 (1st day); erythroblast shadow — 1.7 (7th day); erythroblast shadow — 1.5, 1.9 (23rd day). The price of dividing the scale ruler is 10 micrometers (10 μm)

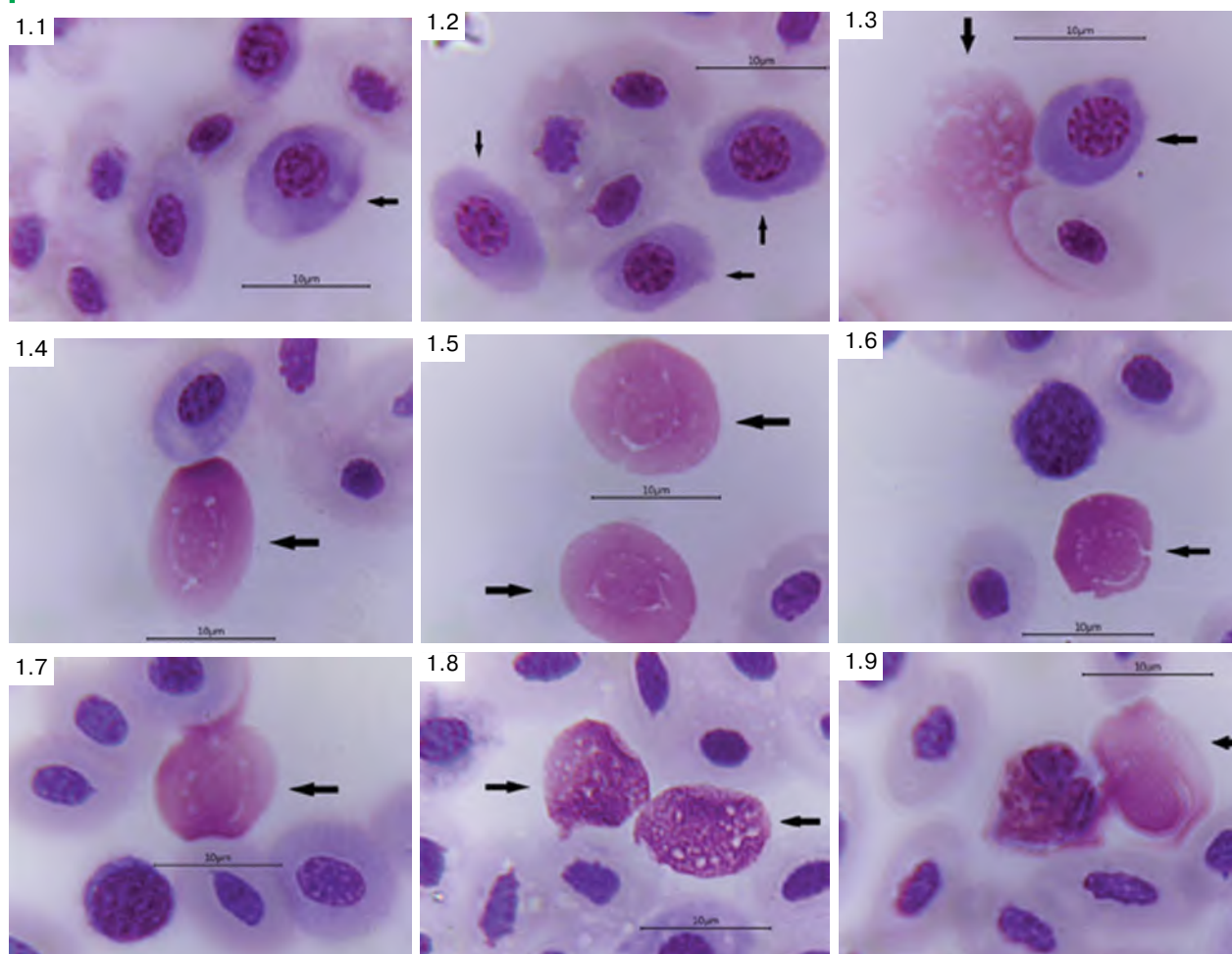
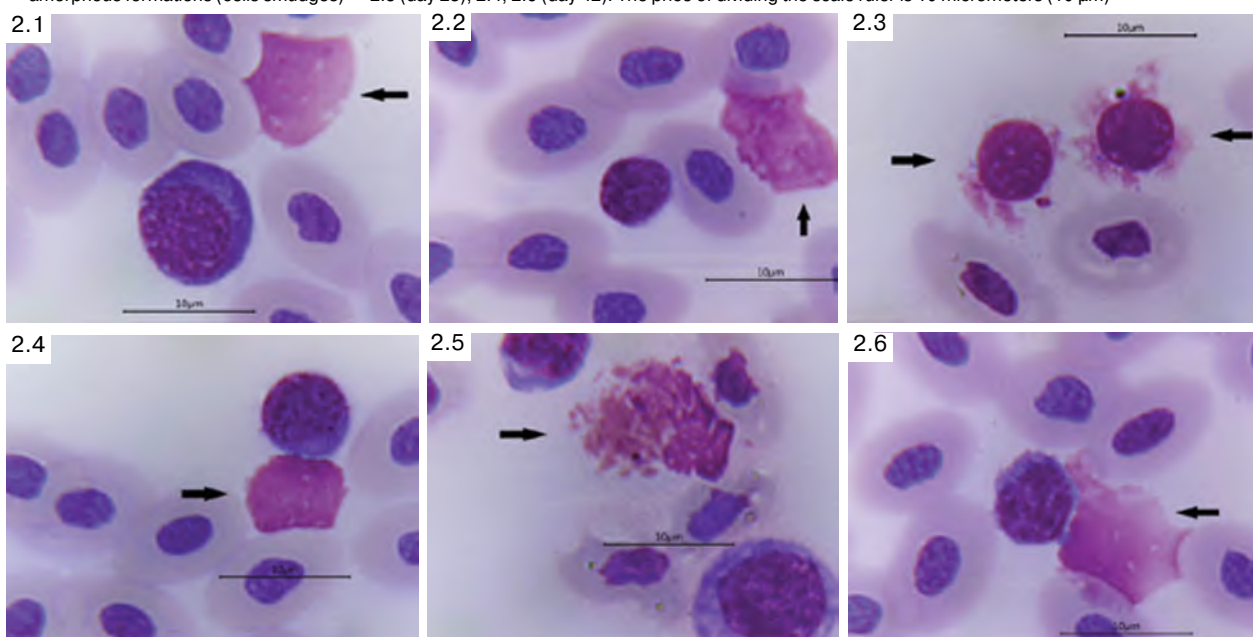


Рис. 2. Периферическая кровь цыплят *Gallus gallus* L. На микрофотографиях представлены тени клеток, эритроциты, лимфоциты, плазмоциты. Тень эритробласта (erythroblast shadow) — 2.1 (42-й день). Недифференцируемые тени клеток (cells shadows) — 2.3 (23-й день), 2.2 (42-й день). Недифференцируемые тени клеток, представленные бесструктурными образованиями (cells smudges) — 2.5 (23-й день), 2.4, 2.6 (42-й день). Цена деления масштабной линейки — 10 микрометров (10 μ m)

Fig. 2. Peripheral blood of *Gallus gallus* L. chickens. The microphotographs show cell shadows, erythrocytes, lymphocytes, and plasmocytes. Erythroblast shadow — 2.1 (day 42). Undifferentiated cell shadows — 2.3 (day 23), 2.2 (day 42). Undifferentiated cell shadows represented by structureless amorphous formations (cells smudges) — 2.5 (day 23), 2.4, 2.6 (day 42). The price of dividing the scale ruler is 10 micrometers (10 μ m)



По современной номенклатуре полихроматофильные эритробласты (или нормобласты [24, 29]) являются терминальными бластными элементами, которые превращаются в ретикулоциты [24].

Известны ранее полученные результаты, в работе I. Aroch *et al.* [10] показаны единичные микрофотографии теней лимфоцитов в мазке периферической крови птиц (*African Grey parrot*). Авторы демонстрируют черно-белые микрофотографии теней лейкоцитов лошадей (*Equidae s. Solidungula*) [22]. Отмечается о формировании в результате эксперимента и теней эритроцитов, однако в работе соответствующие микрофотографии отсутствуют [22].

J. Ma *et al.* [16] приводят микрофотографию с тенью эритробластов (*smudge cells*) в мазке костного мозга человека с хронической горной болезнью.

Полихроматофильные эритробласты чаще с округлой или округло-овальной формой клетки и ядра, выраженной структурой хроматина (рис. 1.1–1.3). Так как в цитоплазме полихроматофильных эритробластов происходят процессы синтеза гема и глобина, цитоплазма имеет окрас светло-фиолетовых оттенков (рис. 1.1–1.3).

S. Hristoskova *et al.* [14] подчеркивают, что у млекопитающих при физиологическом апоптозе поздних стадий эритробластов, то есть ортохромных эритробластов (полихроматофильных по современной номенклатуре [24]), процесс апоптоза может происходить без типичного лизиса с сохранением формы тела и ядра бластной клетки.

Структурированные тени эритробластов (*erythroblast shadows*) характеризуются хроматинолизом в различной степени выраженности (рис. 1.4–1.9, 2.1), в некоторых случаях отмечается множественная вакуолизация цитоплазмы, приводящая к губчатоподобному виду тени цитоплазмы (рис. 1.8).

A.A. Солдатов *с соавт.* [25] регистрировали в циркулирующей крови контрольной и опытных групп (экспериментальная гипотермия) рыбы (*Neogobius melanostomus*) тени эритроцитов (*red blood cell smudges*), имеющие аморфную структуру без контуров ядра и видимых

признаков остаточного структурирования цитоплазмы. В то же время не было установлено достоверных различий в циркуляции теней эритроцитов (*smudge cells*) в контрольной и опытной (в условиях переохлаждения) группах [25].

Типичные морфологические изменения при апоптозе клеток крови — это сжатие клетки и ядра (кариопикноз), конденсация и фрагментация (рестрикция) ядерного хроматина (кариорексис), нарушение целостности мембраны клеток [15].

В работе [22] различные формы теней гранулярных и агранулярных лейкоцитов непарнокопытных млекопитающих (*Mammalia*) характеризовались такими патоморфологическими изменениями, как цитоллиз, кариорексис, кариопикноз, хроматинолиз, кариокинез, фрагментация ядра.

Неидентифицированные тени клеток (*cells shadows*) (рис. 2.2–2.6) в состоянии цитоллиза (*cell smudge*) различной степени (рис. 2.2–2.6), фрагментации цитоплазмы (рис. 2.2, 2.3, 2.5), отмечаются кариопикноз и кариорексис, фрагментация хроматина (рис. 2.2, 2.5), кариолизис (рис. 2.4, 2.6). Однако не всегда цитоллиз и (или) фрагментация цитоплазмы (рис. 2.3) сопровождается кариорексисом и (или) кариопикнозом, кариолизисом.

Авторы характеризовали установленные в крови рыб красноватого цвета с небольшим сиреневым оттенком аморфные формы теней эритроцитов (*red blood cell smudges*) как остатки стромы зрелых эритроцитов, которые лизируются в циркулирующей крови; *red blood cell smudges* были пигментированы мембранно-ассоциированным гемоглобином [25].

Структурированные тени эритробластов (рис. 1.4–1.9, 2.1) и недифференцированные тени (рис. 2.2–2.6) в мазках крови цыплят имеют светло-пурпурный цвет с красноватым оттенком.

Установлена существенная разница в размерах площади теней эритробластов, превосходящей величину площади полихроматофильных эритробластов, в пределах 25% ($p \leq 0,001$), при этом превышение процента

Таблица 1. Морфофизиологические параметры полихроматофильных эритробластов и теней эритробластов кур *Gallus gallus* L. кросса Hubbard ISA F15 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$)

Table 1. Morphophysiological parameters of polychromatophilic erythroblasts and shadow erythroblasts of chickens *Gallus gallus* L. cross Hubbard ISA F15 ($\bar{X} \pm \text{SEM}$)

Объект	Параметры							
	S_{cell} , μm^2	$S_{\text{cell-min-max}}$, μm^2	$P_{\text{cell-differ.-min-max}}$, %	S_{nucleus} , μm^2	$S_{\text{nucleus-min-max}}$, μm^2	$P_{\text{nucleus-differ.-min-max}}$, %	N/C Ratio	$P_{\text{N/C Ratio}}$
PolyErythro	59,27 $\pm 2,94^{***}$	49,44 –67,11 ^{***}	135,74 ^{***}	17,05 $\pm 0,85^{***}$	14,61 –19,31 ^{***}	132,17 ^{***}	0,41 $\pm 0,03^{***}$	151,92 ^{***}
Объект	S_{shadow} , μm^2	$S_{\text{shad.-min-max}}$, μm^2	$P_{\text{shad.-cell-differ.-min-max}}$, %	$S_{\text{shad.-nucleus}}$, μm^2	$S_{\text{shad.-nucle.-min-max}}$, μm^2	$P_{\text{shad.-nucle.-differ.-min-max}}$, %	N/C Ratio-shad.-cell	$P_{\text{N/C Ratio-shad.-cell}}$
ShadErythro	74,16 $\pm 5,42^{***}$	52,81 –97,47 ^{***}	184,57 ^{***}	22,34 $\pm 1,07^{***}$	18,29 –26,45 ^{***}	109,16 ^{***}	0,46 $\pm 0,05^{***}$	248,55 ^{***}

Примечание: PolyErythro — полихроматофильные эритробласты; ShadErythro — тени эритробластов; ^{***} $p < 0,001$ — уровень значимости различия средних значений показателей определен с помощью t-критерия Стьюдента для индивидуальных выборок (*T-test, single sample*).

Note: PolyErythro — Polychromatophilic erythroblasts; ShadErythro — Shadows of erythroblasts; ^{***} $p < 0.001$ — the level of significance of the difference in the average values of the indicators was determined using the Student's t-test for individual samples (*T-test, single sample*).

различия минимальных от максимальных значений площади теней эритробластов ($P_{\text{shad.-cell-differ.-min-max}}$, %) от $P_{\text{cell-differ.-min-max}}$, % полихроматофильных эритробластов составило 36% ($p \leq 0,001$) (табл. 1). В этом ключе интересным является то, что разница в величинах процента различия минимальных от максимальных значений площади ядра эритробластов ($P_{\text{nucleus-differ.-min-max}}$) и тени ядра эритробластов ($P_{\text{shad.-nucle.-differ.-min-max}}$) достоверно меньше аналогичных величин (отмеченных выше) по клеткам и теням эритробластов. Так, $P_{\text{nucleus-differ.-min-max}}$ превышает $P_{\text{shad.-nucle.-differ.-min-max}}$ только на 21% ($p \leq 0,001$) (табл. 1).

В обобщении анализа вышеотмеченных величин соответствующих пространственных параметров теней эритробластов и эритробластов необходимо отметить, что процент различия минимальных от максимальных значений ядерно-цитоплазматического соотношения теней эритробластов ($P_{\text{N/C Ratio-shad.-cell}}$) существенно превышал аналогичную величину полихроматофильных эритробластов ($P_{\text{N/C Ratio}}$) в пределах 64% ($p \leq 0,001$) (табл. 1, рис. 3). Однако при этом величины ядерно-цитоплазматических соотношений полихроматофильных эритробластов (N/C Ratio) и теней эритробластов ($P_{\text{N/C Ratio-shad.-cell}}$) имели сравнительно минимальное различие (табл. 1, рис. 3). N/C Ratio-shad.-cell теней эритробластов превышало N/C Ratio полихроматофильных эритробластов только на 12% ($p \leq 0,001$) (табл. 1, рис. 3).

Положение о весьма близких величинах N/C Ratio полихроматофильных эритробластов и N/C Ratio-shad.-cell теней эритробластов (табл. 1, рис. 3) с одновременной высокой разницей в индивидуальном ранжировании ядерно-цитоплазматического соотношения, то есть значительном различии величин $P_{\text{N/C Ratio-shad.-cell}}$ теней эритробластов от такового $P_{\text{N/C Ratio}}$ полихроматофильных эритробластов (табл. 1), объяснимо разной степенью выраженности апоптоза цитоплазмы эритробластов [14, 19], а также от того, что тени эритробластов образованы разными группами эритробластов по степени зрелости и, соответственно, объема цитоплазмы [19], что и подтверждается отмеченным выше значительным превышением величины

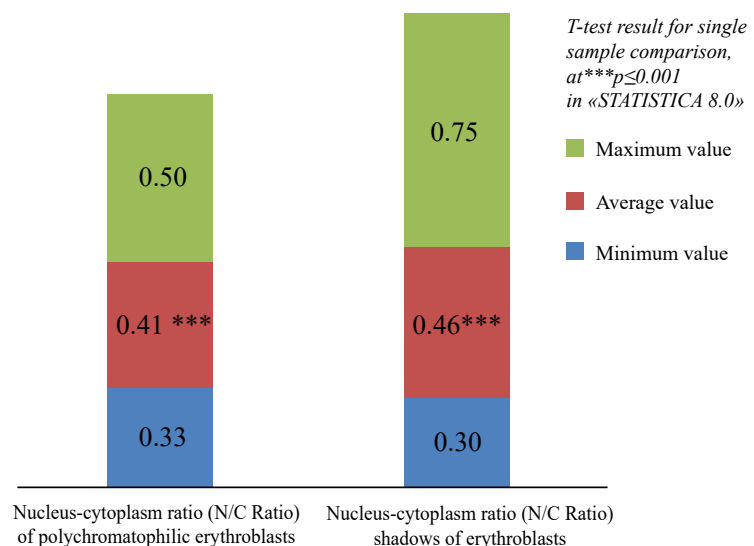
$P_{\text{shad.-cell-differ.-min-max}}$ теней эритробластов над таковым значением $P_{\text{cell-differ.-min-max}}$ для эритробластов в пределах 36% ($p \leq 0,001$) (табл. 1).

A. Diwan *et al.* [19] отмечают, что эндогенный физиологический апоптоз наблюдается больше среди зрелых эритробластов, то есть полихроматофильных. Это объясняется тем, что ранние формы (преимущественно базофильные эритробласты) во многом расходуются на превращение в полихроматофильные эритробласты, пул которых наиболее выражен [19]. К тому же полихроматофильные эритробласты высокоинтенсивно подвергаются терминальной дифференцировке на пути к формированию зрелых эритроцитов [19].

Структурированные (с тенью цитоплазмы и ядра) тени эритробластов в наибольшем количестве представлены у цыплят в возрасте 1-х суток — 40%, до 30% ($p \leq 0,05$) — в 23-дневном возрасте (рис. 4).

Рис. 3. Ядерно-цитоплазматическое соотношение полихроматофильных эритробластов и теней эритробластов в периферической крови цыплят *Gallus gallus* L. Левая диаграмма отображает динамику ядерно-цитоплазматического соотношения (N/C Ratio) полихроматофильных эритробластов, правая диаграмма показывает динамику N/C Ratio — теней эритробластов; нижний ряд (синие столбцы) — минимальные значения N/C Ratio; средний ряд (красные столбцы) — средние значения N/C Ratio, ^{***} $p < 0,001$ — рассчитаны с помощью t-критерия Стьюдента для индивидуальных выборок (*T-test, single sample*); верхний ряд (зеленые столбцы) — максимальные значения N/C Ratio; над столбцами диаграмм отмечены величины N/C Ratio

Fig. 3. Nuclear-cytoplasmic ratio of polychromatophilic erythroblasts and shadows of erythroblasts in the peripheral blood of chickens *Gallus gallus* L. The left diagram displays the dynamics of the nuclear-cytoplasmic ratio (N/C Ratio) of polychromatophilic erythroblasts; the right diagram shows the dynamics of N/C Ratio — shadows of erythroblasts; bottom row (blue columns) — minimum N/C Ratio values; middle row (red columns) — average values of N/C Ratio, ^{***} $p < 0.001$ — calculated using Student's t-test for individual samples (*T-test, single sample*); top row (green columns) — maximum N/C Ratio values; N/C Ratio values are marked above the diagram columns



Значительное снижение количества структурированных теней эритробластов отмечается в 7-суточном возрасте (на 30%) ($p \leq 0,05$), и в 42-дневном возрасте происходит понижение — до 20% ($p \leq 0,05$) (рис. 4). В 23- и 42-дневном возрасте регистрируются бесструктурные аморфные тени клеток (рис. 2.2, 2.4–2.6).

Было установлено, что эритробласты в мазках из пуповинной крови млекопитающих (*Mammalia*) часто демонстрируют большой процент апоптической ядерной морфологии, то есть апоптоз [14]. При этом с ростом и развитием организма снижается синтез регуляторов активизации апоптоза ферментов — каспаз, вследствие этого существенно снижается физиологический апоптоз эритробластов, таким образом, происходит прекращение циркуляции апоптозных эритробластов, то есть теней эритробластов, в периферической крови у млекопитающих [14].

Интересно, что экспериментальная инактивация (*knockout*) гена, кодирующего антиапоптозный фактор BCL-XL, приводила к усилению апоптоза эритробластов на поздних стадиях созревания [14].

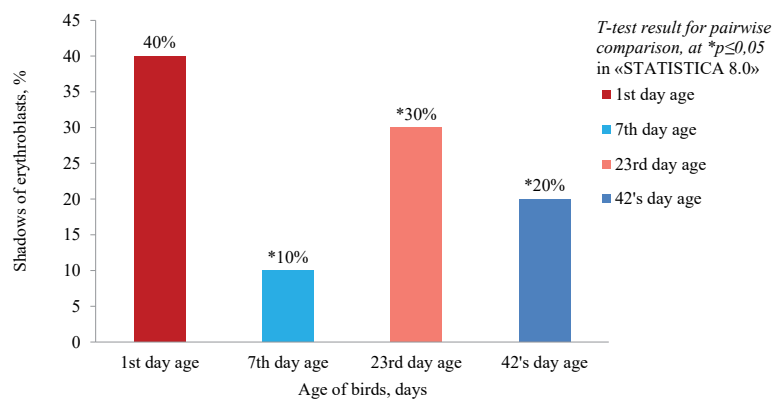
При экспериментальной гипотермии изучался эритроцитарный профиль морской рыбы (*Neogobius melanostomus*) [25]. В периферической крови опытных групп рыбы было установлено статистически достоверное увеличение количества циркулирующих базофильных и полихроматофильных эритробластов [25]. Механизм повышения концентрации базофильных и полихроматофильных эритробластов в периферической крови у рыб (*Neogobius melanostomus*) в условиях экспериментального переохлаждения авторы объясняют активацией эритропоэтина и его метаболического воздействия на пул пролиферирующих эритробластов [25].

Положение по количественной кривой возрастной динамики теней эритробластов у птиц ювенального периода (рис. 4) характеризуется следующим. Цыплята-бройлеры отличаются ускоренным темпом роста, опережающим развитие организма в целом [12]. Новорожденные цыплята имеют нестабильную терморегуляцию [4, 11]. В то же время организм цыплят нуждается в полноценном снабжении тканей органов кислородом, адекватным новым условиям жизнедеятельности (воздушная среда, атмосферное давление и влажность) сатурацией и газообменом [9, 11]. В связи с этим эритропоэз у новорожденной птицы высокоактивный, однако период активности сравнительно короткий, цыплята в данный период окончательно расходуют эмбриональный трофический запас, а пищеварительная система только формируется [2, 4, 30, 31]. Эритробласты и эритроциты птиц отличаются сравнительной хрупкостью и высоким метаболизмом (с сохранным функциональным ядром) [1, 2, 4–8]. Поэтому регистрируется наибольшее количество теней эритробластов в возрасте 1-х суток (рис. 4). Далее организм цыплят подвергается приспособительным процессам к интенсивным факторам среды жизнедеятельности (в промышленных условиях) [12, 30, 31].

Адаптационные реакции отличаются форсированной подготовкой организма к конституциональным изменениям, существенным метаболическими затратами — началу

Рис. 4. Динамика (%) теней эритробластов в периферической крови цыплят *Gallus gallus* L. Ось ординат представлена в процентах динамики циркуляции теней эритробластов; ось абсцисс отражает градацию возраста цыплят в сутках: 1-е сутки (красный столбец), 7-е сутки (голубой столбец), 23-й день (розовый столбец), 42-й день (синий столбец), * $p \leq 0,05$ — рассчитаны с помощью t-критерия Стьюдента для парных сравнений (*T-test, for pairwise comparison*)

Fig. 4. Dynamics (%) of erythroblast shadows in the peripheral blood of *Gallus gallus* L. chickens The ordinate axis is represented as a percentage by the dynamics of the circulation of erythroblast shadows; the abscissa axis reflects the gradation of the age of chickens in days: 1st day (red column), 7th day (blue column), 23rd day (pink column), 42nd day (blue column), * $p \leq 0,05$ — calculated using the Student's t-test for paired comparisons (*T-test, for pairwise comparison*)



формирования бройлерного соматического типа, процессу первой линьки [12, 30, 31]. В связи с этим отмечается взаимосвязанное с эритропоэзом снижение [30, 31] в конце I декады постнатального онтогенеза и ростом количества теней эритробластов в III декаде онтогенеза (рис. 4).

В IV декаде и начале V декады онтогенеза у цыплят отмечаются «адаптационные реакции первичной стабилизации» [30, 31], характеризующиеся стабилизацией обменных процессов [12] сопряженных с уравниванием гемоцитопоза [7, 8, 30, 31], в связи с этим отмечается снижение количества циркулирующих теней эритробластов (рис. 4).

Заключение/Conclusion

Таким образом, по результатам обзора и собственным экспериментальным данным представлена физиологическая характеристика форм дегенерации клеток периферической крови цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.) ювенального периода постнатального онтогенеза.

В результате анализа в светооптической микроскопии цветных с высоким разрешением микрофотографий форменных элементов в мазках крови бройлерных кур была дана сравнительная морфофизиологическая характеристика теней эритробластов, полихроматофильных эритробластов и недифференцированных теней клеток крови.

Комплексно изучались такие показатели у эритробластов и теней эритробластов, как площадь клетки, площадь ядра, процент различия минимальных от максимальных значений площади клетки, процент различия минимальных от максимальных значений площади ядра клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦС) и процент различия минимальных от максимальных значений ЯЦС.

Полученные данные морфофизиологического анализа форм дегенерации клеток крови будут полезными в клинической диагностике нозологий животных, экспериментальных и теоретических изысканиях клеточных адаптаций функциональной системы крови и организма в целом.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в работу.

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors made an equal contribution to the work.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Campbell T.W. Exotic Animal Hematology and Cytology. Fourth edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. 2015; xvi: 402. ISBN 978-1-118-61116-6. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>
- Clark P., Boardman W., Raidal S. Atlas of Clinical Avian Hematology. Oxford: Wiley-Blackwell. 2009; 200. ISBN 978-1-444-31619-3
- Harvey J.W. Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas. St. Louis, Missouri: Saunders. 2012; 384. ISBN 978-1437701739
- Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. Ленинград: Наука. 1980; 116.
- Колесник Е.А., Дерkho М.А. Характеристика проблематики морфологии клеток крови неонатального онтогенеза кур. Сообщение I. Особенности постэмбрионального кроветворения, различия в подходах и проблематика морфофункционального анализа крови птиц (обзор). АПК России. 2019; 26(4): 637–643. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4385556>
- Campbell T.W. Hematology. Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. (eds.). Avian Medicine: Principles and Applications. Lake Worth, Florida: Wingers Publishing. 1994; 176–198. ISBN 0-9636996-0-1
- Колесник Е.А., Дерkho М.А. Характеристика проблематики морфологии клеток крови неонатального онтогенеза кур. Сообщение II. Характеристика дифференциальных морфологических маркеров форменных элементов крови птиц. АПК России. 2019; 26(4): 644–652. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4385940>
- Колесник Е.А., Дерkho М.А. Способ определения синтетической активности полихроматофильных эритробластов и эритроцитов птиц. Патент № 2799424 С1. Российская Федерация. Дата начала отсчета срока действия патента: 10.01.2023. Опубликовано: 05.07.2023. <https://www.elibrary.ru/xxwsxm>
- Anokhin K.V., Tiunova A.A., Rose S.P.R. Reminder effects — reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *European Journal of Neuroscience*. 2002; 15(11): 1759–1765. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02023.x>
- Aroch I., Targan N., Gancz A.Y. A novel modified semi-direct method for total leukocyte count in birds. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 2013; 68(2): 111–118.
- Herron L.R. et al. A chicken bioreactor for efficient production of functional cytokines. *BMC Biotechnology*. 2018; 18: 82. <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0495-1>
- Колесник Е.А., Дерkho М.А. Об участии холестерина, прогестерона, кортизола и липопротеинов в возрастных изменениях обмена веществ у цыплят-бройлеров промышленного кросса. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52(4): 749–756. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.4.749rus>
- Bordini J. et al. Erythroblast apoptosis and microenvironmental iron restriction trigger anemia in the VK*MYC model of multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100(6): 834–841. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.118000>
- Hristoskova S., Holzgreve W., Hahn S., Rusterholz C. Human mature erythroblasts are resistant to apoptosis. *Experimental Cell Research*. 2007; 313(5): 1024–1032. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.12.018>
- Jaber B.L., Cendoroglo M., Balakrishnan V.S., Perianayagam M.C., King A.J., Pereira B.J.G. Apoptosis of leukocytes: Basic concepts and implications in uremia. *Kidney International*. 2001; 59(S78): S197–S205. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.59780197.x>
- Ma J. et al. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2019; 76: 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2019.01.002>
- Newton K., Strasser A. Cell Death Control in Lymphocytes. *Advances in Immunology*. 2001; 76: 179–226. [https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(01\)76020-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(01)76020-8)
- Чумакова С.П., Уразова О.И., Зима А.П., Новицкий В.В. Особенности физиологии эритроцитов. Гемолитиз и эритроцитоз. *Гематология и трансфузиология*. 2018; 63(4): 343–351. <https://doi.org/10.25837/HAT.2019.51.80.003>
- Diwan A., Koesters A.G., Capella D., Geiger H., Kalfa T.A., Dorn II G.W. Targeting erythroblast-specific apoptosis in experimental anemia. *Apoptosis*. 2008; 13(8): 1022–1030. <https://doi.org/10.1007/s10495-008-0236-3>
- Pyrshv K.A., Klymchenko A.S., Csúcs G., Demchenko A.P. Apoptosis and eryptosis: Striking differences on biomembrane level. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes*. 2018; 1860(6): 1362–1371. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.03.019>

REFERENCES

- Campbell T.W. Exotic Animal Hematology and Cytology. Fourth edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. 2015; xvi: 402. ISBN 978-1-118-61116-6. <https://doi.org/10.1002/9781118993705>
- Clark P., Boardman W., Raidal S. Atlas of Clinical Avian Hematology. Oxford: Wiley-Blackwell. 2009; 200. ISBN 978-1-444-31619-3
- Harvey J.W. Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas. St. Louis, Missouri: Saunders. 2012; 384. ISBN 978-1437701739
- Bolotnikov I.A., Solovyov Yu.V. Hematology of birds. Leningrad: Nauka. 1980; 116 (In Russian).
- Kolesnik E.A., Derkho M.A. Characterizing the morphophysiology problems of blood cells of chickens' neonatal ontogenesis. Report I. The features of postembryonic hematopoiesis, differences in approaches and problems of morphofunctional blood analysis. *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2019; 26(4): 637–643 (In Russian). <https://doi.org/10.5281/zenodo.4385556>
- Campbell T.W. Hematology. Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. (eds.). Avian Medicine: Principles and Applications. Lake Worth, Florida: Wingers Publishing. 1994; 176–198. ISBN 0-9636996-0-1
- Kolesnik E.A., Derkho M.A. Characterizing the morphophysiology problems of blood cells of chickens' neonatal ontogenesis. Report II. Characterizing the differential morphophysiological markers of chickens' blood cells. *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2019; 26(4): 644–652 (In Russian). <https://doi.org/10.5281/zenodo.4385940>
- Kolesnik E.A., Derkho M.A. Method of determining the synthetic activity of polychromatophilic erythroblasts and erythrocytes of birds. Patent No. 2799424 C1. Russian Federation. Starting date of the patent validity period: 10.01.2023. Published: 05.07.2023 (In Russian). <https://www.elibrary.ru/xxwsxm>
- Anokhin K.V., Tiunova A.A., Rose S.P.R. Reminder effects — reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *European Journal of Neuroscience*. 2002; 15(11): 1759–1765. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02023.x>
- Aroch I., Targan N., Gancz A.Y. A novel modified semi-direct method for total leukocyte count in birds. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 2013; 68(2): 111–118.
- Herron L.R. et al. A chicken bioreactor for efficient production of functional cytokines. *BMC Biotechnology*. 2018; 18: 82. <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0495-1>
- Kolesnik E.A., Derkho M.A. On the participation of cholesterol, progesterone, cortisol and lipoproteins in age-related metabolic changes in broiler chickens of industrial cross. *Agricultural Biology*. 2017; 52(4): 749–756. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.4.749eng>
- Bordini J. et al. Erythroblast apoptosis and microenvironmental iron restriction trigger anemia in the VK*MYC model of multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100(6): 834–841. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.118000>
- Hristoskova S., Holzgreve W., Hahn S., Rusterholz C. Human mature erythroblasts are resistant to apoptosis. *Experimental Cell Research*. 2007; 313(5): 1024–1032. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.12.018>
- Jaber B.L., Cendoroglo M., Balakrishnan V.S., Perianayagam M.C., King A.J., Pereira B.J.G. Apoptosis of leukocytes: Basic concepts and implications in uremia. *Kidney International*. 2001; 59(S78): S197–S205. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.59780197.x>
- Ma J. et al. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2019; 76: 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2019.01.002>
- Newton K., Strasser A. Cell Death Control in Lymphocytes. *Advances in Immunology*. 2001; 76: 179–226. [https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(01\)76020-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(01)76020-8)
- Chumakova S.P., Urazova O.I., Zima A.P., Novitsky V.V. Features of the physiology of erythrocytes. Hemolysis and eryptosis. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2018; 63(4): 343–351 (In Russian). <https://doi.org/10.25837/HAT.2019.51.80.003>
- Diwan A., Koesters A.G., Capella D., Geiger H., Kalfa T.A., Dorn II G.W. Targeting erythroblast-specific apoptosis in experimental anemia. *Apoptosis*. 2008; 13(8): 1022–1030. <https://doi.org/10.1007/s10495-008-0236-3>
- Pyrshv K.A., Klymchenko A.S., Csúcs G., Demchenko A.P. Apoptosis and eryptosis: Striking differences on biomembrane level. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes*. 2018; 1860(6): 1362–1371. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.03.019>

21. González-Campos J., Ríos-Herranz E., De Blas-Orlando J.M., Martín-Noya A., Parody-Ruiz-Berdejo R., Rodríguez-Fernández J.M. Chronic lymphocytic leukemia with two cellular populations: a biphenotypic or bclonal disease. *Annals of Hematology*. 1997; 74(5): 243–246. <https://doi.org/10.1007/s002770050292>
22. Олешкевич А.А., Василевич Ф.И. Изменение физиологического состояния клеток крови лошадей в ультразвуковом поле. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2017; (9): 72–80. <https://www.elibrary.ru/zrsydr>
23. Алексеева О.М., Кременцова А.В., Кривандин А.В., Шаталова О.В., Ким Ю.А. Модельные биомембраны как тест-объекты для определения концентрационных диапазонов вредных химических веществ в биологических средах и объектах внешней среды. *Токсикологический вестник*. 2019; (3): 33–45. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2019-3-33-45>
24. Anderson Young S.C., Poulsen K.B. Anderson's Atlas of Hematology. Third Edition. Burlington, Vermont: Jones & Bartlett Learning. 2020; 614. ISBN 978-1975118259
25. Soldatov A.A., Kladchenko E.S., Kukhareva T.A., Andreyeva A.Yu. Erythrocyte profile of circulating blood of *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) under conditions of experimental hypothermia. *Journal of Thermal Biology*. 2020; 89: 102549. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102549>
26. Owen J.C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. *Journal of Field Ornithology*. 2011; 82(4): 339–354. <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x>
27. Mulisch M., Welsch U. (eds.). Romeis — Mikroskopische Technik. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum. 2015; xviii: 603. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55190-1>
28. White F.H., Jin Y., Yang L. An evaluation of the role of nuclear cytoplasmic ratios and nuclear volume densities as diagnostic indicators in metaplastic, dysplastic and neoplastic lesions of the human cheek. *Histology and Histopathology*. 1997; 12(1): 69–77.
29. Кухарева Т.А., Солдатов А.А. Функциональная морфология эритроидных элементов крови *Neogobius melanostomus* P. в процессе клеточной дифференцировки. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2016; 52(3): 233–238. <https://www.elibrary.ru/vvabsn>
30. Колесник Е.А., Дерхо М.А. Характеристика факторов гипоталамико-адреноренальной регуляции и неспецифических адаптационных реакций у бройлерных цыплят. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2017; (1): 81–91. <https://www.elibrary.ru/yftepr>
31. Колесник Е.А., Дерхо М.А. Об участии гипоталамико-адреноренальных гормонов в регуляции клеточного пула крови у цыплят-бройлеров. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2018; (1): 64–74. <https://doi.org/10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2018.1.64-74>
21. González-Campos J., Ríos-Herranz E., De Blas-Orlando J.M., Martín-Noya A., Parody-Ruiz-Berdejo R., Rodríguez-Fernández J.M. Chronic lymphocytic leukemia with two cellular populations: a biphenotypic or bclonal disease. *Annals of Hematology*. 1997; 74(5): 243–246. <https://doi.org/10.1007/s002770050292>
22. Oleshkevich A.A., Vasilevich F.I. Change in the physiological state of horses' blood cells in the ultrasound field. *Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*. 2017; (9): 72–80 (In Russian). <https://www.elibrary.ru/zrsydr>
23. Alekseeva O.M., Kremetsova A.V., Krivandin A.V., Shatalova O.V., Kim Yu.A. Model biomembranes as test objects for determining concentration ranges of harmful chemicals in biological media and environmental objects. *Toxicological bulletin*. 2019; (3): 33–45 (In Russian). <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2019-3-33-45>
24. Anderson Young S.C., Poulsen K.B. Anderson's Atlas of Hematology. Third Edition. Burlington, Vermont: Jones & Bartlett Learning. 2020; 614. ISBN 978-1975118259
25. Soldatov A.A., Kladchenko E.S., Kukhareva T.A., Andreyeva A.Yu. Erythrocyte profile of circulating blood of *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) under conditions of experimental hypothermia. *Journal of Thermal Biology*. 2020; 89: 102549. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102549>
26. Owen J.C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. *Journal of Field Ornithology*. 2011; 82(4): 339–354. <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x>
27. Mulisch M., Welsch U. (eds.). Romeis — Mikroskopische Technik. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum. 2015; xviii: 603. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55190-1>
28. White F.H., Jin Y., Yang L. An evaluation of the role of nuclear cytoplasmic ratios and nuclear volume densities as diagnostic indicators in metaplastic, dysplastic and neoplastic lesions of the human cheek. *Histology and Histopathology*. 1997; 12(1): 69–77.
29. Kukhareva T.A., Soldatov A.A. Functional morphology of blood erythroid cells in *Neogobius melanostomus* P. during cell differentiation. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2016; 52(3): 261–266. <https://doi.org/10.1134/S0022093016030091>
30. Kolesnik E.A., Derkho M.A. Studying the factors of pituitary-adrenocortical regulation and nonspecific adaptive reactions in broiler chickens. *Problems of Productive Animal Biology*. 2017; (1): 81–91 (In Russian). <https://www.elibrary.ru/yftepr>
31. Kolesnik E.A., Derkho M.A. About participation of pituitary-adrenocortical hormones in regulation of blood cellular pool in chicken-broilers. *Problems of Productive Animal Biology*. 2018; (1): 64–74 (In Russian). <https://doi.org/10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2018.1.64-74>

ОБ АВТОРАХ

Евгений Анатольевич Колесник¹

доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии, этологии и биохимии животных Института зоотехнии и биологии evgeniy251082@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-2326-651X>

Марина Аркадьевна Дерхо²

доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой естественно-научных дисциплин Института ветеринарной медицины derkho2010@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0003-3818-0556>

Максим Борисович Ребезов^{3, 4}

• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник³;
• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов⁴ rebezov@ya.ru <https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

¹ Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127434, Россия

² Южно-Уральский государственный аграрный университет, ул. им. Ю.А. Гагарина, 13, Троицк, 457100, Россия

³ Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, ул. Талалихина, 26, Москва, 109316, Россия

⁴ Уральский государственный аграрный университет, ул. Карла Либкнехта, 42, Екатеринбург, 620075, Россия

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniy Anatolyevich Kolesnik¹

Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Physiology, Ethology and Biochemistry of Animals at the Institute of Animal Science and Biology evgeniy251082@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-2326-651X>

Marina Arkadyevna Derkho²

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Natural Sciences of the Institute of Veterinary Medicine derkho2010@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0003-3818-0556>

Maksim Borisovich Rebezov^{3, 4}

• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher³;
• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Food Products⁴ rebezov@ya.ru <https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

¹ Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russia

² South Ural State Agrarian University, 13 Gagarin Str., Troitsk, 457100, Russia

³ V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, 26 Talalikhin Str., Moscow, 109316, Russia

⁴ Ural State Agrarian University, 42 Karl Liebknecht Str., Yekaterinburg, 620075, Russia