

Экологические аспекты организации иммунной системы рептилий

© 2020. Е. Б. Романова, д. б. н., профессор,
Е. И. Соломайкин, аспирант,
Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского
(Национальный исследовательский университет),
603950, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23,
e-mail: romanova@ibbm.unn.ru

В обзоре систематизированы данные литературы по формированию стратегий иммунной защиты рептилий к патогенам среды обитания и приведены собственные исследования иммуногематологических показателей ядовитых и неядовитых змей. Рептилии – первые полностью наземные позвоночные эктотермные животные. Лимфоидная система рептилий высокоорганизованная, лимфомиелоидный комплекс характеризуются гетерогенностью. Защита от ксенобиотиков обеспечивается неспецифическим (врождённым) и специфическим (адаптивным, приобретённым) иммунитетом. Врождённая система, по сравнению с адаптивными ответами, реагирует более быстро и эффективно. Мощная защита против инфекций представлена антимикробными пептидами: лизоцимами, дефензинами, системой комплемента, набором неспецифических лейкоцитов, формированием воспалительной реакции, набором цитокин-подобных компонентов. Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов. Отличительной особенностью рептилий является ослабленная реакция отторжения чужеродного трансплантата. Гуморальные иммунные ответы осуществляются посредством В-лимфоцитов. Для рептилий известно как минимум два класса иммуноглобулинов, обсуждаются их строение и функции. Отмечены особенности переключения внутриклеточного синтеза иммуноглобулинов с одного изотипа на другой; соматическая рекомбинация генов иммуноглобулинов. Показано, что стратегия иммунной защиты определяется как онтогенетическими особенностями рептилий, так и путём поступления, величиной и длительностью воздействия антигенов, диапазоном внешней температур, сезонностью. Выявлены закономерности иммунного реагирования ядовитых и неядовитых змей на комплекс факторов окружающей среды. Впервые использован иммуногематологический подход для оценки состояния популяции узорчатого полоза *Elaphe diene* на заповедной территории. В механизмах формирования адаптивной реакции рептилий на популяционном уровне установлена биотопическая и межвидовая изменчивость.

Ключевые слова: рептилии, иммунная система, врождённый иммунитет, адаптивный иммунитет, иммуногематология.

Ecological aspects of the immune system of reptiles

© 2020. E. B. Romanova ORCID: 0000-0002-1925-7864
E. I. Solomaykin ORCID: 0000-0003-4030-8272
N.I. Lobachevsky University of Nizhny Novgorod (National Research University)
23, Gagarina Prospekt, Nizhny Novgorod, Russia, 603950,
e-mail: romanova@ibbm.unn.ru

We systematized the literature data on reptiles' immune system and provided our own research on the immunohematological characteristics of venomous and non-venomous snakes at that review.

The reptiles' lymphomyeloid complex is characterized by heterogeneity. The protection against to a wide range of habitat antigens is provided by two forms of immune response: innate and adaptive immunity. The innate immunity in comparison with adaptive responses responds more quickly and effectively. Protection against infections is represented by antimicrobial peptides, the complement system, a set of nonspecific leukocytes, and the formation of an inflammatory reaction, with a set of cytokine-like components. The mechanisms of adaptive immunity are cellular and humoral factors actions. The reptiles have a weakened reaction of transplant rejection. Humoral immune responses are carried out by B-lymphocytes. In this paper there are discussed the structure and functions reptiles' immunoglobulins, as well as the switching features of intracellular synthesis of immunoglobulins from one isotype to another. It was shown that the immune protection strategy is determined not only by the ontogenetic features of reptiles, but also by the input, size, and duration of exposure to antigens, by the range of external temperatures, by seasonality. The patterns of the immune response of venomous and non-venomous snakes to a complex of environmental factors were revealed. For the first time an immunohematological approach has been used to assess the status of the population of *Elaphe diene* in nature reserve. Biotopic and interspecific variability was found in the mechanisms of formation of the adaptive response at the population level.

Keywords: reptiles, immune system, innate immunity, adaptive immunity, immunohematological approach.

Одной из главных задач факториальной экологии является исследование влияния абиотических факторов на живые организмы в природных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости видов к внешним воздействиям. Ключевой гомеостатической системой организма, обеспечивающей адаптацию организма к постоянно изменяющимся условиям среды, является иммунная система. В настоящее время многое известно о функционировании иммунитета млекопитающих, гораздо менее изучены другие группы позвоночных, в том числе первые настоящие наземные позвоночные – пресмыкающиеся или рептилии (Reptilia) [1–5]. Современные рептилии представлены отрядами: Клювоголовые (Rhynchoscephalia), Крокодилы (Crocodylia) и Черепахи (Chelonia). Вместе с птицами и млекопитающими рептилии формируют группу амниот – первично-наземных высших позвоночных, единственных эктотермных животных, не подвергающихся метаморфозу. Неспецифические иммунные ответы рептилий во многих случаях протекают сильнее, чем у млекопитающих, но относительно мало изучены. Реакции же адаптивного иммунитета, включая клеточный и гуморальный ответы, практически не исследованы. Изучение специфических форм защиты от чужеродных агентов у представителей этого класса крайне важно для познания эволюционного становления иммунитета и отслеживания преемственной связи с птицами и млекопитающими, для которых характерен высший уровень иммуноэволюции – интегрированный клеточный и гуморальный иммунитет.

Целью настоящей работы явилась систематизация данных литературы по формированию стратегий иммунной защиты рептилий к совокупности чужеродных агентов инфекционной и неинфекционной природы, постоянно поступающих в организм из окружающей среды.

Лимфомиелоидные органы и ткани рептилий

Важнейшая функция иммунитета заключается в поддержании динамического равновесия внутренней среды организма, защите от паразитов и чужеродных агентов (ксенобиотиков). Рептилии – эволюционно первая группа животных, у которой начинается расхождение клеток по самостоятельным лимфатическим и кровеносным путям [6, 7].

Организация иммунной системы рептилий имеет много общего, с одной стороны, с кровью рыб и амфибий, с другой – птиц и млекопитающих [8–10].

Лимфоидную и кроветворную систему рептилий объединяют в единый лимфомиелоидный комплекс, включающий хорошо организованную вилочковую железу (тимус), селезёнку, лимфоидную ткань кишечника, лимфоидные агрегаты в клоаке и костный мозг [1, 11]. В центральных органах иммунной системы рептилий (костном мозге, тимусе) происходит формирование и созревание иммуноцитов. Костный мозг рептилий является основным источником стволовых элементов кроветворения [12], местом созревания Т-клеток [13] и начинает развиваться на самых ранних этапах онтогенеза [14]. У взрослых животных в зависимости от систематической принадлежности наблюдаются анатомические вариации тимуса как по локализации, так и по числу сформированных долей.

Тимус рептилий подвержен возрастной и сезонной инволюции, выражающейся в нивелировке различий между корой и медуллой, замещением лимфоидной массы органа соединительной тканью [15–17]. Морфологически тимус наиболее выражен осенью, в зимний период наблюдается его инволюция с последующей реконструкцией к весне [18].

В периферических органах иммунной системы (селезёнке, скоплении лимфоидной ткани, лимфоузлах) происходит пролиферация и дифференцировка зрелых лимфоцитов, продуцируются антитела и эффекторные лимфоциты. Селезёнка рептилий имеет дольчатое строение [19], характеризуется наличием гистологически различающихся участков: красной и белой пульпы [20, 21]. Зародышевые центры в селезёнке не образуются [22, 23]. Лимфатические узлы рептилий не имеют фолликул или центров размножения [24, 25]. Сезонные изменения в лимфоидных органах рептилий контролируются нейроэндокринной системой [18, 26, 27].

Врождённый иммунитет

Существенным препятствием на пути проникновения ксенобиотиков в организм являются внешние покровы [28]. Мощная защита против инфекций у рептилий представлена антимикробными пептидами: лизоцимами – гидролитическими ферментами, разрушающими пептидогликановый слой

клеточной стенки бактерий, и дефензимами [33, 34]. Впервые β -дефензин, известный как пептид TBD-1, был выделен из лейкоцитов европейской болотной черепахи (*Emys orbicularis*) [35]. К другим семействам антимикробных пептидов рептилий относится пеловатерин [36] и кателицидины [37–39].

Ключевым компонентом врождённого иммунитета является система комплемента – группа сывороточных белков, которые циркулируют в плазме крови [40]. Интересно, что система комплемента американского аллигатора (*Alligator mississippiensis*) более эффективна в отношении нескольких штаммов грамположительных бактерий [41], вируса иммунодефицита типа 1 (ВИЧ-1), вируса лихорадки Западного Нила, вируса простого герпеса [42] по сравнению с сывороткой крови человека. Клеточные механизмы неспецифической резистентности у рептилий представлены набором лейкоцитов: моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами [43]. Моноциты обрабатывают и представляют антигены, а также высвобождают цитокины – гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий [4, 44, 45]. Фагоцитарная активность этих клеток существенно зависит от температуры [46]. Гетерофилы участвуют в воспалительной реакции и подавляют вторжение микроорганизмов [47–49]. Эозинофилы играют важную роль в защите от паразитарных инфекций [4] и развитии воспалительных реакций [49]. Активация антиген-специфических рецепторов на мембране базофилов приводит к дегрануляции клетки и выбросу гистамина [50].

В ответ на внутриклеточные патогены, у рептилий образуются гистиоцитарные гранулёмы с участием макрофагов, которые активно продуцируют цитокины. Так, у черепах (*Testudo graeca*) обнаружена способность синтезировать интерфероны макрофагами [51] и клетками миокарда [52]. Есть сведения об идентификации хемокина, гомолога интерлейкина-8 (IL-8) в панцире мягкотелой трёхкоготной черепахи (*Pelodiscus sinensis*) [53]; интерлейкина-2 в тимоцитах диадемового полоза (*Spalerosophis diadema*) [54, 55]. Интенсивность развития у рептилий воспалительной реакции определяется оптимальной для вида температурой окружающей среды [56–58]. Установлен сложный характер взаимосвязи активации неспецифических факторов резистентности рептилий, как экзотермных животных, с температурой среды обитания [58].

Адаптивный (приобретённый) иммунитет

Под адаптивным (приобретённым) иммунным ответом понимают специфический по отношению к антигену ответ, осуществляемый клонами иммунокомпетентных клеток, имеющих соответствующие антигенраспознающие рецепторы [1]. Механизмы адаптивного иммунитета реализуются действием клеточных и гуморальных факторов.

Клеточные реакции. Т-лимфоциты являются основными участниками клеточной формы иммунного реагирования и обнаружены у представителей всех отрядов рептилий [59]. Пролиферативная способность Т-клеток имеет выраженный сезонный характер [55, 60, 61]. При этом, у черепах не обнаружено половых различий в интенсивности клеточных реакций [61, 62]. Напротив, у песчаных змей они чётко выражены [63]. Реакция бласттрансформации Т-лимфоцитов у ящериц протекает аналогично реакции у млекопитающих [64, 65].

Отличительной особенностью рептилий является менее эффективное отторжение аллотрансплантата по сравнению с амфибиями [66], при этом установлена слабая выраженность индивидуальных различий по антигенам гистосовместимости [67].

Гуморальные реакции. Гуморальные иммунные ответы (посредством В-лимфоцитов) у рептилий осуществляются медленнее по сравнению с млекопитающими [5]. Наиболее активным органом в продукции антител является селезёнка (50% В-клеток). В периферической крови обнаружено 25% В-клеток; в костном мозге – 20%; в тимусе – 1%. В раннем онтогенезе дифференцировка В-клеток осуществляется в печени [1]. Подобно В-клеткам других амниот В-клетки красноухой черепахи (*Trachemys scripta*) обладают и фагоцитарной способностью [68].

Рептилии производят не менее двух классов иммуноглобулинов: IgM и IgY [69]. IgM синтезируется первым в ответ на инфекцию, IgY передаётся от матери к эмбриону, имеет длительный период полураспада, производится в большем количестве [70]. Гены тяжёлой цепи иммуноглобулинов содержат высокий уровень генетического разнообразия и расположены в виде единого локуса с множеством генов варибельной области в структуре молекулы [71], поэтому рептилии характеризуются гетерогенностью по иммуноглобулинам [72–76]. В результате рекомбинации

между IgM и IgY возможно возникновение IgA-подобных иммуноглобулинов [77, 78]. Рептилии также могут производить иммуноглобулин IgD [76, 79, 80], функция которого пока не изучена. После иммунизации антитела обнаруживаются в плазме крови рептилий в течение шести–восьми недель [3, 39, 71, 81–83]. При повторном воздействии антигена период выработки антител сокращается [3, 4, 84, 85]. Однако, в отличие от млекопитающих, не происходит увеличения титра антител [5] и вновь синтезируются первичные IgM [4, 5]. Наиболее высокие иммунные ответы наблюдаются при определённой, оптимальной для конкретного вида рептилий температуре [41, 46, 86, 87]. Исследования стратегий иммунной защиты рептилий имеют важное практическое значение в ветеринарии для оценки клинического состояния и лечения заражённых животных [88–90].

Знание механизмов регуляции защитных функций организма необходимо для решения практических природоохранных вопросов в области экологии отдельных видов. В этой связи отметим работы, посвящённые оценке воздействия конкретных поллютантов [91, 92] и антропогенных загрязнителей среды [93, 94] на иммунный статус организма рептилий, сравнительному анализу адаптивных реакций системы крови ядовитых и неядовитых змей [95, 96], оценке состояния популяции узорчатого полоза *Elaphe dione* на особо охраняемой территории [97].

Заключение

Подводя итог систематизации сведений о строении иммунной системы рептилий, отметим гетерогенность лимфомиелоидного комплекса и фактическое его соответствие лимфоидной системе высокоорганизованных позвоночных животных. Являясь эволюционно более продвинутой группой, по сравнению с амфибиями, рептилии обладают широким спектром адаптивных реакций, сведения о которых на сегодняшний день фрагментарны и мало изучены. Врождённая система иммунитета характеризуется более высоким развитием и эффективной реакцией на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания, по сравнению с адаптивными ответами. Иммунная система рептилий является ключевой гомеостатической структурой, чувствительным маркером неспецифических и специфических реакций организма, что имеет практическую значи-

мость, связанную с оценкой качества среды путём биоиндикации.

Не менее актуальны и вопросы определения характеристик популяционного иммунного гомеостаза, обеспечивающего выживание и существование рептилий в условиях антропогенного стресса.

References

- Galaktionov V.G. Immunology. Moskva: Izdatel'skiy centr "Akademiya", 2004. 528 p. (in Russian).
- Cooper E.L. Comparative immunology. New Jersey: Engle Wood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., 1976. 422 p.
- Work T.M., Balazs G.H., Rameyer R.A., Chang S.P., Berestecky J. Assessing humoral and cell-mediated immune response in Hawaiian green turtles, *Chelonia mydas* // Vet. Immunol. Immunopathol. 2000. V. 74. P. 179–194. doi: 10.4049/jimmunol.0803251
- Coico R. Immunology. A short course. Hoboken, NY: Wiley-Liss Publications, 2003. 237 p.
- Zimmerman L.M., Vogel L.A., Bowden R.M. Understanding the vertebrate immune system: insights from the reptilian perspective // J. Experimental Biology. 2010. V. 213. P. 661–671. doi: 10.1242/jeb.038315
- Cuchens M.A., Clem L.W. Phylogeny of lymphocyte diversity. III. Mitogenic responses of reptilian lymphocytes // Dev. Comp. Immunol. 1979. V. 3. P. 287–297. doi: 10.1016/s0145-305x(79)80025-7
- Dabrowski Z., Sano Martins I.S., Tabarowski Z. Haematopoiesis in snakes (Ophidia) in early postnatal development // Cell. Tissue Res. 2007. V. 328. P. 291–299. doi: 10.1007/s00441-006-0303-4
- Cooper E.L., Klempau A.E., Zapata A.G. Reptilian immunity // Biol. Reptilia. New York, 1985. V. 14. P. 601–636.
- Eliman M.M. Hematology and plasma chemistry of the Inland bearded dragon // Bull. Ass. Rep. Amph. Vet. 1997. V. 7. No. 4. P. 15–26. doi: 10.2307/41262610
- Metin K., Turkozan O., Kargin F., Basimoglu Koca Y., Taskavak E., Koca S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European Pond turtle *Emys orbicularis* // Acta. Vet. Brno. 2006. V. 75. P. 49–55. doi: 10.2754/avb200675010049
- Kvell K., Cooper E.L., Engelmann P., Bovari J., Nemeth P. Blurring borders: innate immunity with adaptive features // Clin. Dev. Immunol. 2007. V. 2007. P. 83671. doi: 10.1155/2007/83671
- Zapata A.G., Leceta J., Villena A. Reptilian bone marrow. An ultrastructural study in the Spanish lizard, *Lacerta hispanica* // J. Morphol. 1981. V. 168. P. 137–149. doi: 10.1002/jmor.1051680203
- Jurd R.D. Reptiles and birds // Immunology: A comparative approach / Ed. R.J. Turner. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd., 1994. P. 137–172.

14. Lu Y., Li P. Development of thymus gland in snake // *J. Morphol.* 2001. V. 248. No. 3. P. 256.
15. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., Akef M. Effect of seasonal variation on lymphoid tissues of the lizards, *Mabuya quinquetaeniata licht* and *Uromastyx aegyptia forsk* // *Dev. Comp. Immunol.* 1978. V. 2. P. 469–478. doi: 10.1016/S0145-305X(78)80008-1
16. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., El Deeb S. Effect of splenectomy on the humoral immune response in the lizard, *Scincus scincus* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1979. V. 35. P. 869–870. doi: 10.1007/BF01955118
17. El Ridi R., Badir N., El Rouby S. Effect of seasonal variations on the immune system of the snake, *Psammophis schokar* // *J. Exp. Zool.* 1981. V. 216. P. 357–365. doi: 10.1002/jez.1402160303
18. Krumm I.I. Comparative analysis of cell replacement in hibernators // *Comp. Biochem. Physiol.* 1992. V. 101A. P. 11–18. doi: 10.1016/0300-9629(92)90620-6
19. Cooper E.L. Comparative immunology. Moskva: Mir, 1980. 442 p. (in Russian).
20. Zapata A.G., Leceta J., Barrutia M.G. Ultrastructure of splenic white pulp of the turtle, *Mauremys caspica* // *Cell Tissue Res.* 1981. V. 220. P. 845–855. doi: 10.1007/BF00210466
21. Kroese F.G.M., Van Rooijen N. The architecture of the spleen of the red-eared slider, *Chrysemys scripta elegans* (Reptilia, Testudines) // *J. Morphol.* 1982. V. 173. P. 279–284. doi: 10.1002/jmor.1051730304
22. Kanakambika P., Muthukkaruppan V.R. Effect of splenectomy on the immune response in the lizard, *Calotes versicolor* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1972. V. 28. P. 1225–1226. doi: 10.1007/bf01946185
23. Hussein M.F., Badir N., El Ridi R., El Deeb S. Effect of splenectomy on the humoral immune response in the lizard, *Scincus scincus* // *Cell. Mol. Life Sci.* 1979. V. 35. P. 869–870. doi: 10.1007/BF01955118
24. Borysenko M., Cooper E.L. Lymphoid tissue in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* // *J. Morph.* 1972. V. 138. 487 p. doi: 10.1002/jmor.1051380408
25. Zapata A.G., Varas A., Torroba M. Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates // *Immunol. Today.* 1992. V. 13. P. 142–147. doi: 10.1016/0167-5699(92)90112-K
26. El Ridi R., Zada S., Afifi A., El Deeb S., El Rouby S., Farag M., Saad A.H. Cyclic changes in the differentiation of lymphoid cells in reptiles // *Cell Differ.* 1988. V. 24. P. 1–8. doi: 10.1016/0045-6039(88)90081-4
27. Lynch H.E., Goldberg G.L., Chidgey A., Van den Brink M.R.M., Boyd R., Sempowsk G.D. Thymic involution and immune reconstitution // *Trends Immunol.* 2009. V. 30. P. 366–373. doi: 10.1016/j.it.2009.04.003
28. Orrigi F.C. Reptile immunology: in infectious diseases and pathology of reptiles / Ed. E.R. Jacobson. New York: Taylor, Francis, 2007. P. 131–166. doi: 10.1201/9781420004038
29. Gayen S.K., Som S., Sinha N.K., Sen A. Lysozyme in egg whites of tortoises and turtle: Purification and properties of egg white lysozyme of *Trionyx gangeticus cuvier* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1977. V. 183. P. 432–442. doi: 10.1016/0003-9861(77)90378-2
30. Ingram G.A., Molyneux D.H. The humoral immune response of the spiny-tailed agamid lizard (*Agama caudospinosum*) to injection with Leishmania agamae promastigotes // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1983. V. 4. P. 479–491. doi: 10.1016/0165-2427(83)90008-9
31. Araki T., Yamamoto T., Torikata T. Reptile lysozyme: the complete amino acid sequence of soft-shelled turtle lysozyme and its activity // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998. V. 62. P. 316–324. doi: 10.1271/bbb.62.316
32. Thammasirak S., Ponkham P., Preecharram S., Khanchanuan R., Phonyothee P., Daduang S., Srisomsap C., Araki T., Svasti J. Purification, characterization and comparison of reptile lysozymes // *Comp. Biochem. Physiol.* 2006. V. 143. P. 209–217. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.02.004
33. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of vertebrates // *C. R. Biologies.* 2004. V. 327. P. 539–549. doi: 10.1016/j.crv.2003.12.007
34. Chattopadhyay S., Sinha N.K., Banerjee S., Roy D., Chattopadhyay D.D., Roy S. Small cationic protein from a marine turtle has β -defensin-like fold and antibacterial and antiviral activity // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 2006. V. 64. P. 524–531. doi: 10.1002/prot.20963
35. Stegemann C., Kolobov A., Leonova Y.F., Knappe D., Shamova O., Ovchinnikova T.V., Kokryakov V.N., Hoffmann R. Isolation, purification and de novo sequencing of TBD-1, the first beta-defensin from leukocytes of reptiles // *Proteomics.* 2009. V. 9. P. 1364–1373. doi: 10.1002/prot.200800569
36. Lakshminarayanan R., Vivekanandan S., Samy R.P., Banerjee Y., Chi-Jin E.O., Teo K.W., Jois S.D.S., Kini R.M., Valiyaveetil S. Structure, self-assembly, and dual role of a β -defensin-like peptide from the Chinese soft-shelled turtle eggshell matrix // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 4660–4668. doi: 10.1021/ja075659k
37. Tomasinsig L., Zanetti M. The cathelicidins – structure, function, and evolution // *Curr. Protein Pept.* 2005. V. 6. P. 23–34. doi: 10.2174/1389203053027520
38. Wang Y., Hong J., Liu X., Yang H., Liu R., Wu J., Wang A., Lin D., Lai R. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotic // *PLoS One.* 2008. V. 3. P. e3217. doi: 10.1371/journal.pone.0003217
39. Preecharram S., Daduang S., Bunyatratchata W., Araki T., Thammasirak S. Antibacterial activity from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum // *Afr. J. Biotechnol.* 2008. V. 7. P. 3121–3128.
40. Seelen M.A.J. Role of complement in innate and autoimmunity // *J. Nephrol.* 2005. V. 18. P. 642–653.
41. Merchant M., Roche C., Elsey R.M., Prudhomme J. Antibacterial properties of serum from the American

- alligator (*Alligator mississippiensis*) // Comp. Biochem. Physiol. 2003. V. 136. P. 505–513. doi: 10.1016/s1096-4959(03)00256-2
42. Merchant M., Pallansch M., Paulman R.L., Wells J.B., Nalca A., Ptak R. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*) // Antiviral Res. 2005. V. 66. P. 35–38. doi: 10.1016/j.antiviral.2004.12.007
43. Davis A.K., Maney D.L., Maerz J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists // Functional Ecology. 2008. V. 22. P. 760–772. doi: 10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x
44. Davis A.K., Cook K.C., Altizer S. Leukocyte profiles of House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease // Ecohealth. 2004. V. 1. P. 362–373. doi: 10.1007/s10393-004-0134-2
45. Arican H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica. 2010. V. 5. No. 2. P. 179–198. doi: 10.13128/Acta_Herpetol-8526
46. Mondal S., Rai U. *In vitro* effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis* // Comp. Biochem. Physiol. 2001. V. 129. P. 391–398. doi: 10.1016/s1095-6433(00)00356-1
47. Montali R.J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, birds and mammals) // J. Comp. Pathol. 1988. V. 99. P. 1–26. doi: 10.1016/0021-9975(88)90101-6
48. Hawkey C.M., Dennett T.B. Color atlas of comparative veterinary hematology. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1989. 181 p.
49. Jain N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. P. 1–18.
50. Sypek J.P., Borysenko M., Findlay S.R. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* // Dev. Comp. Immunol. 1984. V. 8. P. 359–366. doi: 10.1016/0145-305x(84)90042-9
51. Galabov A.S., Velichkova E.H. Interferon production in tortoise peritoneal cells // J. Gen. Virol. 1975. V. 28. P. 259–263. doi: 10.1099/0022-1317-28-2-259
52. Mathews J.H., Vorndam A.V. Interferon-mediated persistent infection of Saint Louis Encephalitis virus in a reptilian cell line // J. Gen. Virol. 1982. V. 61. P. 177–186. doi: 10.1099/0022-1317-61-2-177
53. Zhou X., Guo Q., Dai H. Molecular characterization and expression profiles in response to bacterial infection of Chinese soft-shelled turtle interleukin-8 (IL-8), the first reptilian chemokine gene // Dev. Comp. Immunol. 2009. V. 33. P. 838–847. doi: 10.1016/j.dci.2009.02.002
54. El Ridi R., Wahby A.F., Saad A.H. Characterization of snake interleukin 2 // Dev. Comp. Immunol. 1986. V. 10. P. 128.
55. El Ridi R., Wahby A.F., Saad A.H., Soliman M.A.W. Concanavalin A responsiveness and interleukin 2 production in the snake *Spalerosphis diadema* // Immunobiology. 1987. V. 174. P. 177–189. doi: 10.1016/S0171-2985(87)80037-2
56. Kluger M.J., Ringler D.H., Anver M.R. Fever and survival // Science. 1975. V. 188. P. 166–168.
57. Merchant M., Williams S., Trosclair P.L., Elsey R.M., Mills K. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*) // Comp. Biochem. Physiol. A. 2007. V. 148. P. 921–925. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.09.016
58. Amaral J.P.S., Marvin G.A., Hutchison V.H. The influence of bacterial lipopolysaccharide on the thermoregulation of the box turtle *Terrapen carolina* // Physiol. Biochem. Zool. 2002. V. 75. P. 273–282. doi: 10.1086/341816
59. Burnham D.K., Keall S.N., Nelson N.J., Daugherty C.H. T cell function in tuatara (*Sphenodon punctatus*) // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2005. V. 28. P. 213–222. doi: 10.1016/j.cimid.2005.01.005
60. Farag M.A., El Ridi R. Mixed leucocyte reaction (MLR) in the snake *Psammophis sibilans* // Immunology. 1984. V. 55. P. 173–181.
61. Munoz F.J., De la Fuente M. The effect of the seasonal cycle on the splenic leukocyte functions in the turtle *Mauremys caspica* // Physiol. Biochem. Zool. 2001. V. 74. P. 660–667. doi: 10.1086/323033
62. Keller J.M., McClellan-Green P.D., Lee A.M., Arendt M.D., Maier P.P., Segars A.L., Whitaker J.D., Keil D.E., Peden-Adams M.M. Mitogen-induced lymphocyte proliferation in loggerhead sea turtles: comparison of methods and effects of gender, plasma testosterone concentration, and body condition on immunity // Vet. Immunol. Immunopathol. 2005. V. 103. P. 269–281. doi: 10.1016/j.vetimm.2004.09.029
63. Saad A.H. Sex-associated differences in the mitogenic responsiveness of snake blood lymphocyte // Dev. Comp. Immunol. 1989. V. 13. P. 225–229. doi: 10.1016/0145-305x(89)90003-7
64. Munoz F.J., Estrada-Parra S., Romero-Rojas A., Work T.M., Gonzalez-Ballesteros E., Estrada-Garcia I. Identification of CD3⁺ T lymphocytes in the green turtle *Chelonia mydas* // Vet. Immunol. Immunopathol. 2009. V. 131. P. 211–217. doi: 10.1016/j.vetimm.2009.04.015
65. Berger S., Martin L.B., Wikelski M., Romero L.M., Kalko E.K.V., Vitousek M.N., Rodl T. Corticosterone suppresses immune activity in territorial Galapagos marine iguanas during reproduction // Horm. Behav. 2005. V. 47. P. 419–429. doi: 10.1016/j.yhbeh.2004.11.011
66. Afifi A., Mohamed E.R., El Ridi R. Seasonal conditions determine the manner of rejection in reptiles // J. Exp. Zool. 1993. V. 265. P. 459–468. doi: 10.1002/jez.1402650417
67. Farag M.A., El Ridi R. Functional markers of the major histocompatibility gene complex of snakes // Eur. J. Immunol. 1990. V. 20. P. 2029–2033. doi: 10.1002/eji.1830200922

68. Zimmerman L.M., Vogel L.A., Edwards K.A., Bowden R.M. Phagocytic B cells in a reptile // *Biol. Lett.* 2009. V. 23. No. 6 (2). P. 270–273. doi: 10.1098/rsbl.2009.0692
69. Natarajan K., Muthukkaruppan V.R. Distribution and ontogeny of B cells in the garden lizard, *Calotes versicolor* // *Dev. Comp. Immunol.* 1985. V. 9. P. 301–310. doi: 10.1016/0145-305X(85)90121-1
70. Warr G.W., Magor K.E., Higgins D.A. IgY: clues to the origins of modern antibodies // *Immunol. Today.* 1995. V. 16. P. 392–398. doi: 10.1016/0167-5699(95)80008-5
71. Turchin A., Hsu E. The generation of antibody diversity in the turtle // *J. Immunol.* 1996. V. 156. P. 3797–3805.
72. Grey H.M. Phylogeny of the immune response: studies on some physical chemical and serological characteristics of antibody produce in the turtle // *J. Immunol.* 1963. V. 91. P. 819.
73. Coe J.E. Immune response in the turtle (*Chrysemys picta*) // *Immunology.* 1972. V. 23. P. 45.
74. Benedict A.A., Pollard L.W. Three classes of immunoglobulins found in the sea turtle, *Chelonia mydas* // *Folia. Microb.* 1972. V. 17. P. 75–78. doi: 10.1007/BF02872256
75. Leslie G.A., Clem L.W. Phylogeny of immunoglobulin structure and finction. VI. 17S, 7,5S and 5,7S anti-DNP of the turtle, *Pseudamys scripta* // *J. Immunol.* 1972. V. 108. P. 1656.
76. Wei Z., Wu Q., Ren L., Hu X., Guo Y., Warr G.W., Hammarstrom L., Li N., Zhao Y. Expression of IgM, IgD, and IgY in a reptile, *Anolis carolinensis* // *J. Immunol.* 2009. V. 183. P. 3858–3864. doi: 10.4049/jimmunol.0803251
77. Deza F.G., Espinel C.S., Beneitez J.V. A novel IgA-like immunoglobulin in the reptile *Eublepharis macularius* // *Dev. Comp. Immunol.* 2007. V. 31. P. 596–605. doi: 10.1016/j.dci.2006.09.005
78. Iwata A., Iwase T., Ogura Y., Takahashi T., Matsumoto N., Yoshida T., Kamei N., Kobayashi K., Mestecky J., Moro I. Cloning and expression of the turtle (*Trachemys scripta*) immunoglobulin joining (J)-chain cDNA // *Immunogenetics.* 2002. V. 54. P. 513–519. doi: 10.1007/s00251-002-0492-2
79. Geisberger R., Lamers M., Achatz G. The riddle of the dual expression of IgM and IgD // *Immunology.* 2006. V. 118. P. 429–437. doi: 10.1111/j.1365-2567.2006.02386.x
80. Deza F.G., Espinel C.S. IgD in the reptile leopard gecko // *Mol. Immunol.* 2008. V. 45. P. 3470–3476. doi: 10.1016/j.molimm.2008.02.027
81. Marchalonis J.J., Ealey E.H.M., Diener E. Immune response of the tuatara, *Sphenodon punctatum* // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1969. V. 47. P. 367–380. doi: 10.1038/icb.1969.40
82. Pye G.W., Brown D.R., Nogueira M.F., Vliet K.A., Schoeb T.R., Bennett R.A. Experimental inoculation of broad-nosed caimans (*Caiman latirostris*) and Siamese crocodiles (*Crocodyllus siamensis*) with *Mycoplasma alligatoris* // *J. Zoo. Wildl. Med.* 2001. V. 32. P. 196–201. doi: 10.1638/1042-7260(2001)032[0196:EIOBNC]2.0.CO;2
83. Origgi F.C., Klein P.A., Mathes K., Blahak S., Marschang R.E., Tucker S.J., Jacobson E.R. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting herpesvirus exposure in Mediterranean tortoises (spur-thighed tortoise [*Testudo graeca*] and Hermann's tortoise [*Testudo hermanni*]) // *J. Clin. Microbiol.* 2001. V. 39. P. 3156–3163. doi: 10.1128/jcm.39.9.3156-3163.2001
84. Ujvari B., Madsen T. Age, parasites, and condition affect humoral immune response in tropical pythons // *Behav. Ecol.* 2005. V. 17. P. 20–24. doi: 10.1093/beheco/ari091
85. Snoeijs T., Eens M., Van Den Steen E., Pinxten R. Kinetics of primary antibody responses to sheep red blood cells in birds: a literature review and new data from great tits and European starlings // *Anim. Biol.* 2007. V. 57. P. 79–95. doi: 10.1163/157075607780002041
86. Merchant M., Britton A. Characterization of serum complement activity of saltwater (*Crocodyllus porosus*) and freshwater (*Crocodyllus johnstoni*) crocodiles. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 2006. V. 143. P. 488–493. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.01.009
87. Raffle T.R., Rohr J.R., Kiesecker J.M., Hudson P.J. Negative effects of changing temperature on amphibian immunity under field conditions // *Func. Ecol.* 2006. V. 20. P. 819–828. doi: 10.1111/j.1365-2435.2006.01159.x
88. Zhelankin R.V., Brylina V.E., Vassiliev G.B., Pavlov G.V. Immune status and its changes in lizards *Pseudopus apodus* after dehelminthization and subsequent immunocorrection // *Scientific Research in Zoological Parks.* 2008. No. 24. P. 53–62 (in Russian).
89. Zhelankin R.V., Pavlov G.V. Immune and hematopoietic system of reptiles. Moskva: Issledovatel'skiy centr kachestva podgotovki specialistov Minobrazovaniya, 2008. 53 p. (in Russian).
90. Zhelankin R.V. Studying of the cellular and humoral factors of immunity and definition of immune status at lizards *Pseudopus apodus* at helminthosis caused to the nematodes *Entomelas* sp. // *The problems of herpetology: Materialy 4 syezda Gerpetologicheskogo obshchestva im. A.M. Nikolskogo.* Kazan, Sankt-Peterburg, 2011. P. 87–92 (in Russian).
91. Keller J.M., McClellan-Green, P.D., Kucklick J.R., Keil D.E., Peden-Adams M.M. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments // *Environ. Health Perspect.* 2006. V. 114. P. 70–76. doi: 10.1289/ehp.8143
92. Day R.D., Segars A.L., Arendt M.D., Lee A.M., Peden-Adams M.M. Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) // *Environ. Health Perspect.* 2007. V. 115. P. 1421–1428. doi: 10.1289/ehp.9918

93. Guillette L.J., Gross T.S., Masson G.R., Matter J.M., Percival H.F., Woodward A.R. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida // *Environ. Health Perspect.* 1994. V. 102. P. 680–688. doi: 10.1289/ehp.94102680

94. Vitt L.J., Caldwell J.P. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Third Edition. Burlington, Massachusetts, U.S.A.: Academic Press, 2009. 630 p.

95. Romanova E.B., Nikolaev V.Yu., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A. The research of leukocyte formula of blood of *Vipera berus* from Samara region // *Principy jekologii*. 2016. V. 5 P. 55–74 [Internet resource] http://ecopri.ru/journal/content_list.php?id=8768 (Accessed: 29.01.2019) (in Russian). doi: 10.15393/j1.art.2016.5422

96. Romanova E.B., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A., Klyonina A.A. Immunohematological Indicators of non- and poisonous snakes in the Volga Basin Areas with different antropogenic transformation // *Proceedings of the Samara Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences*. 2017. V. 19 (2). P. 54–61 (in Russian).

97. Romanova E.B., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A. The leukocyte blood composition of *Elaphe dione* (SERPENTES: COLUBRIDAE) in natural reserve “Orenburgskiy” (Russia) // *Nature Conservation Research*. 2018. No. 3 (Suppl. 1). P. 28–35 [Internet resource] <http://ncr-journal.bear-land.org/article/140> (Accessed: 29.01.2019) (in Russian). doi: 10.24189/ncr.2018.033