

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРАНУЛ НЕЙТРОФИЛОВ И ЭОЗИНОФИЛОВ У НОРОК САПФИРОВОГО ОКРАСА

© Л. Б. Узенбаева, А. Г. Кижина,<sup>1</sup> В. А. Илюха

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, 185910;

<sup>1</sup> электронный адрес: golubewa81@yandex.ru

Установлено, что у норок сапфирового окраса наблюдается нарушение субклеточной структуры нейтрофилов и эозинофилов костного мозга и периферической крови, заключающееся в образовании «гигантских» гранул. Величина и внутриклеточное количество аномальных гранул существенно изменяются в процессе созревания лейкоцитов в костном мозге. В динамике и характере формирования аномальных гранул между эозинофилами и нейтрофилами выявлены различия, которые могут зависеть от времени прохождения отдельных стадий, длительности жизненного цикла и морфофункциональных особенностей этих типов гранулоцитов.

**Ключевые слова:** нейтрофилы, эозинофилы, аномальные гранулы, сапфировые норки.

**Принятые сокращения:** СЧХ — синдром Чедиака—Хигаши (Chediak—Higashi syndrome), LYST — регулятор лизосомального транспорта (lysosomal trafficking regulator), NCR — ядерно-клеточное отношение (nuclear cell relation).

Лейкоциты играют важную роль в сохранении гомеостаза и поддержании иммунореактивности организма. При созревании в костном мозге лейкоциты гранулоцитарного ряда млекопитающих проходят несколько стадий, в течение которых формируются зрелые нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, различающиеся между собой по типу и количеству цитоплазматических гранул.

Уникальной моделью для изучения гранулогенеза в лейкоцитах являются норки сапфирового окраса, представляющие собой мутантную форму дикой американской (*Mustela vison* Schr., 1777). Они относятся к группе голубых норок, имеющих светло-голубую окраску, обусловленную особенностями пигментации меха, и наследственный морфофункциональный дефект лейкоцитов, сходный с синдромом Чедиака—Хигаши (СЧХ) человека (Chediak, 1952; Higashi, 1954). Дисфункция нейтрофилов при данной патологии связана с замедлением хемотаксиса, задержкой слияния лизосом с фагоцитарными вакуолями и главным образом со снижением эффекта внутриклеточного киллинга (Kimball et al., 1975). В связи с аномалией лейкоцитов сапфировые норки отличаются низкой жизнеспособностью, повышенной эмбриональной и ранней постнатальной смертностью, а также снижением устойчивости к вирусному плазмозитозу (Вагин, 2003). Однако, несмотря на иммунодефицит, в отличие от других видов млекопитающих со сходным дефектом, они достигают половозрелого возраста и приносят потомство при разведении в условиях зоокультуры.

Впервые СЧХ обнаружен у человека (Beguez, 1943; Chediak, 1952; Higashi, 1954). Позднее подобное нарушение было выявлено у животных: крыс и мышей (Roder, Duwe, 1979; Nishimura et al., 1989), кошек (Kramer et al., 1977), касаток (Ridgway, 1979), норок, лисиц и песцов

(Leader et al., 1963; Ness et al., 1985; Fagerland et al., 1987) и крупного рогатого скота (Ayers et al., 1988). В качестве модели для изучения этого заболевания наиболее часто используют бежевых мышей и мутантных алеутских норок, имеющих мех цвета вороненого металла (Roder, Duwe, 1979; Ozaki et al., 1994; Tang et al., 2005).

Диагностика СЧХ, в том числе пренатальная, основана на выявлении в лейкоцитах аномально больших гранул (Diukman et al., 1992). Кроме лейкоцитов увеличенные гранулы были найдены в меланоцитах кожи и волоса (Зверева и др., 1976), радужной оболочке глаза (Nishimura et al., 1989), а также в клетках паренхимы печени, большинства желез внутренней и внешней секреции, желудка и тонкого кишечника (Oliver, Essner, 1973). Так, у алеутских норок в результате изменения функции меланосом в волосе формируются увеличенные гранулы меланина и соответственно наблюдается ослабление пигментации (Зверева и др., 1976). У алеутских норок и бежевых мышей эта патология затрагивает нервную ткань — клетки Пуркинье мозжечка, нейроны спинного мозга и пирамидальные клетки коры головного мозга (Oliver, Essner, 1973).

В настоящее время установлено, что клеточный дефект при СЧХ человека и СЧХ-подобных заболеваниях у животных вызывается мутацией гена *LYST* (lysosomal trafficking regulator), ответственного за регуляцию лизосомального транспорта (Introne et al., 1999; Huizing et al., 2008). При этом изменение морфологических особенностей и величины лизосом и родственных им клеточных органелл сопровождается нарушением их функций и возникновением патологии. Например, у депигментированных мутантных мышей расстройство механизма регуляции транспорта лизосом сопровождается существенным

снижением экскреции ферментов лизосом и их аккумуляции в почках (Ozaki et al., 1994).

В отечественной литературе существуют лишь единичные сведения об изменении морфофункциональной организации лейкоцитов у животных при аномалии, сходной с СЧХ. Данные об изменении при СЧХ морфометрических параметров гранул лейкоцитов в процессе их созревания в костном мозге и периферической крови в постнатальном онтогенезе в доступной литературе нам найти не удалось.

В предыдущих работах нами показано, что у сапфировых норок в гранулоцитах, некоторых лимфоцитах и редко в моноцитах периферической крови присутствуют «гигантские» гранулы (Узенбаева и др., 2009; Узенбаева и др., 2011). По цитохимическим признакам, в частности присутствию в аномальных структурах ферментов лизосом и пероксидазы, они соответствуют азурофильным или так называемым первичным гранулам лейкоцитов. Эти данные согласуются с результатами электронно-микроскопических исследований, в которых выявлено, что в нейтрофилах «гигантские» структуры образуются за счет азурофильных гранул, при этом специфические и желатиновые гранулы не принимают участия в их формировании (Kjeldsen et al., 1998).

С учетом наличия в лейкоцитах видоизмененных «гигантских» гранул представляется уникальная возможность проследить на светооптическом уровне динамику аномального гранулогенеза с использованием сапфировых норок в качестве объекта.

Цель настоящей работы заключалась в изучении особенностей формирования аномальных гранул, а также определения их морфометрических параметров в нейтрофилах и эозинофилах костного мозга и периферической крови у сапфировых норок.

## Материал и методика

Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН.

Объектом работы служили норки сапфирового окраса из звероводческого хозяйства Республики Карелия. Морфологию лейкоцитов периферической крови исследовали у щенков в возрасте 4, 10, 60, 120 и 180 сут и взрослых животных (5—8 особей каждого возраста), а костного мозга — у норок в возрасте 180 сут (6 особей). Кровь у норок в возрасте 4 и 10 сут получали при декапитации, в возрасте 60 сут и старше — из хвостовой вены, костный мозг — из эпифиза бедренной кости у только что умерщвленных животных. Мазки крови и костного мозга окрашивали по методу Паппенгейма (Кост, 1975). Микрофотографии получали с помощью светового микроскопа Axioscop 40 (Zeiss, Германия) с цветной цифровой видеокамерой и компьютерной системы анализа изображений Видеотест-Морфология 4.0 (Видеотест, Россия). В лейкоцитах определяли количество гранул и с помощью компьютерной методики NCR (nuclear cell relation) их площадь. Всего исследовали 2425 аномальных гранул в эозинофилах и 645 в нейтрофилах костного мозга, а также 1705 гранул в эозинофилах и 1627 в нейтрофилах периферической крови.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистических программ Statgraphics Plus. Достоверность различий между группами оце-

нивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни и методов дисперсионного анализа (MANOVA). Исследование выполнено в соответствии с правилами проведения работ с экспериментальными животными (Белоусов, 2005).

Использованные реактивы: для окраски мазков использовали краситель-фиксатор Май-Грюнвальда и краситель Романовского (MiniMed, Россия).

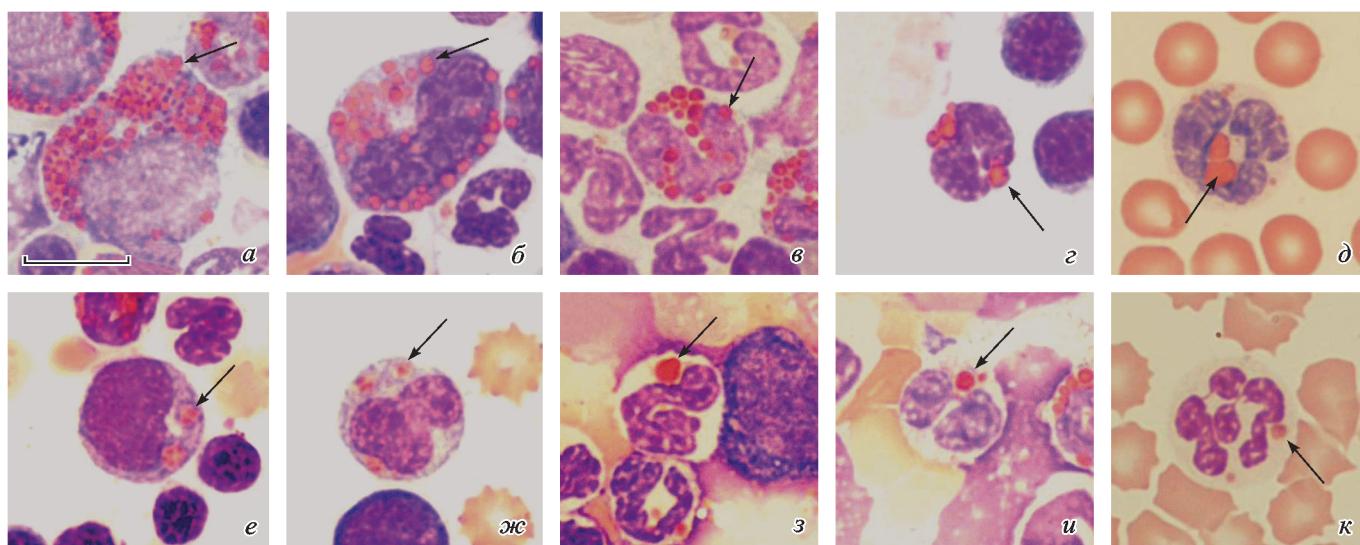
## Результаты и обсуждение

Известно, что у млекопитающих после рождения лейкоциты гранулоцитарного ряда созревают в костном мозге, при этом для нейтрофилов и эозинофилов характерно большое сходство механизмов формирования цитоплазматических гранул. В результате ультраструктурных исследований выявлено, что в процессе гранулогенеза активное участие принимают эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи, в структурах которых последовательно происходят синтез белкового материала и образование гранул. На стадии промиелоцита уже идентифицируются гранулы, характерные для нейтрофилов, эозинофилов и базофилов (Козинец и др., 2001).

В настоящей работе установлено, что у сапфировых норок в эозинофилах и нейтрофилах костного мозга присутствуют аномально большие гранулы; таким образом, в циркуляцию поступают лейкоциты с морфофункциональным дефектом. Формирование подобных аномальных внутриклеточных структур, по-видимому, происходит в результате слияния нескольких гранул (см. рисунок). Аналогичные «гигантские включения», состоящие из электронно-плотных тел и ламеллярных элементов, выявлены у мутантных норок другого окраса — алеутских (Lutzner et al., 1966). В то же время у темно-коричневых норок, близких к дикому типу, как и у других видов млекопитающих, в нейтрофилах на светооптическом уровне выявляется мелкая, едва заметная зернистость, а в эозинофилах — многочисленные небольшие гранулы (Узенбаева и др., 2011).

Особенно заметные изменения формы, величины и количества аномальных гранул происходят при созревании эозинофилов (см. рисунок, *a—d*). В частности, в миелоцитах обнаружено большое содержание сравнительно крупных гранул без заметных на светооптическом уровне признаков объединения и слияния (табл. 1; см. рисунок, *a*). Мелкие гранулы, наличие которых может указывать на нормальное функционирование аппарата Гольджи, встречаются редко. По одним данным, некоторое расширение и разрыв мембран в его структурах, наблюдаемые в клетках панкреатической железы, надпочечников, печени, а также в лимфоцитах у алеутских норок, не приводят к нарушению механизма гранулогенеза (Lutzner et al., 1966). По данным других авторов, в гепатоцитах у бежевых мышей эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи вовлекаются в патогенез СЧХ, о чем свидетельствует аккумуляция в них липидоподобных включений, мембранного и гранулярного материала (Essner, Oliver, 1974).

По мере созревания эозинофилов в костном мозге сапфировых норок происходит увеличение размеров гранул. Максимальные размеры характерны для гранул эозинофилов периферической крови (см. рисунок, *b—d*). Полученные данные согласуются с результатами электронно-микроскопических исследований, согласно кото-



Лейкоциты костного мозга (*a–г, e–и*) и периферической крови сапфировой норки (*д, к*).

*a* — эозинофильный миелоцит, *б* — эозинофильный метамиелоцит, *в* — палочкоядерный эозинофил, *г* — сегментоядерные эозинофилы, *e* — нейтрофильный миелоцит, *ж* — нейтрофильный метамиелоцит, *з* — палочкоядерный нейтрофил, *и, к* — сегментоядерные нейтрофилы. В цитоплазме видны аномальные гранулы (стрелки). Окраска по Паппенгейму. Об. 100×. Масштабный отрезок — 10 мкм.

рым степень выраженности данного дефекта нарастает в процессе развития лейкоцитов (Davis et al., 1971). Образование «гигантских» гранул сопровождается уменьшением их количества (табл. 1). В клетках пролиферирующего пула уменьшение числа гранул может быть связано с их распределением между дочерними клетками в ходе митоза, а в клетках постмитотического пула — с объединением гранул в конгломераты.

Нейтрофилы костного мозга и периферической крови сапфировых норок содержат меньшее количество «гигант-

ских» гранул по сравнению с эозинофилами (табл. 1). Согласно литературным данным, для нейтрофилов и эозинофилов характерны сходные модели пролиферации, дифференцировки, созревания, хранения в костном мозге и выхода в кровь (Козинец и др., 2001). Хотя морфологические преобразования гранул в ходе дифференцировки эозинофилов и нейтрофилов костного мозга сапфировых норок имеют общие черты, можно также выделить их некоторые характерные особенности. В нейтрофилах, так же как и в эозинофилах, аномальные гранулы видны на ранних стадиях созревания. Однако признаки слияния

Таблица 1

**Морфологические особенности гранул эозинофилов и нейтрофилов костного мозга и периферической крови сапфировых норок**

Стадия созревания лейкоцитов	Количество гранул, шт.		Площадь гранулы, мкм <sup>2</sup>	
	эозинофилы	нейтрофилы	эозинофилы	нейтрофилы
Миелоцит	41.89 ± 3.12	8.25 ± 1.46	0.65 ± 0.01	0.41 ± 0.04
Метамиелоцит	31.83 ± 4.27	8.35 ± 2.06	0.64 ± 0.02	0.40 ± 0.03
Палочкоядерный	20.37 ± 3.41 <sup>1,2</sup>	2.48 ± 0.37	0.81 ± 0.04	0.79 ± 0.13 <sup>1,2</sup>
Сегментоядерный (костный мозг)	14.60 ± 1.70 <sup>1,2</sup>	2.19 ± 0.23 <sup>1,2</sup>	1.14 ± 0.06 <sup>1–3</sup>	0.62 ± 0.07 <sup>2</sup>
Сегментоядерный (периферическая кровь)	12.36 ± 1.06 <sup>1,2</sup>	2.65 ± 0.11 <sup>1,2</sup>	1.21 ± 0.07 <sup>1–4</sup>	0.65 ± 0.03 <sup>1,2</sup>

Влияние стадии созревания лейкоцитов на параметры гранул

$\eta^2$ , %	28.15	27.93	7.43	5.43
<i>F</i>	257.54	76.25	41.25	11.30
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Влияние типа лейкоцитов на параметры гранул

$\eta^2$ , %	12.00	2.62
<i>F</i>	725.00	6.86
<i>P</i>	<0.001	<0.001

Примечание. В первой части таблицы данные представлены в форме  $M \pm m$ , надстрочные индексы обозначают достоверность различий по сравнению: <sup>1</sup> — с миелоцитами, <sup>2</sup> — метамиелоцитами, <sup>3</sup> — палочкоядерными и <sup>4</sup> — сегментоядерными лейкоцитами костного мозга, критерий Вилкоксона—Манна—Уитни ( $P < 0.05$ ).  $\eta^2$  — степень влияния фактора, *F* — критерий Фишера, *P* — уровень значимости.

Таблица 2

## Морфологические особенности гранул эозинофилов и нейтрофилов периферической крови сапфировых норок различного возраста

Возраст животных, сут	Количество гранул, шт.		Площадь гранулы, мкм <sup>2</sup>	
	эозинофилы	нейтрофилы	эозинофилы	нейтрофилы
4	23.00 ± 15.56	2.80 ± 0.25	0.52 ± 0.10	0.33 ± 0.02
10	32.25 ± 5.19	2.13 ± 0.14	0.61 ± 0.07	0.51 ± 0.03 <sup>1</sup>
60	15.31 ± 1.17 <sup>2</sup>	2.70 ± 0.18 <sup>2</sup>	1.09 ± 0.04 <sup>1,2</sup>	0.42 ± 0.02 <sup>2</sup>
120	14.7 ± 2.98 <sup>2,3</sup>	2.57 ± 0.15 <sup>2</sup>	1.16 ± 0.14 <sup>1-3</sup>	0.48 ± 0.02 <sup>1,3</sup>
180	18.41 ± 1.60 <sup>2</sup>	2.90 ± 0.12 <sup>2</sup>	1.00 ± 0.04 <sup>1-3</sup>	0.50 ± 0.02 <sup>1-4</sup>
Взрослые	17.43 ± 1.14 <sup>2</sup>	2.76 ± 0.09 <sup>2</sup>	1.06 ± 0.04 <sup>1-3</sup>	0.51 ± 0.02 <sup>1,3</sup>
Влияние возраста животных на параметры гранул				
η <sup>2</sup> , %	5.14	17.88	1.68	0.35
F	17.61	65.87	58.86	1.05
P	<0.001	<0.001	<0.001	>0.005
Влияние типа лейкоцитов на параметры гранул				
η <sup>2</sup> , %	62.13		1.68	
F	62.00		58.86	
P	<0.001		<0.001	

Примечание. В первой части таблицы данные представлены в форме  $M \pm m$ , надстрочные индексы обозначают достоверность различий по сравнению с животными в возрасте: <sup>1</sup> — 4 сут, <sup>2</sup> — 10 сут, <sup>3</sup> — 60 сут и <sup>4</sup> — 120 сут, критерий Вилкоксона—Манна—Уитни ( $P < 0.05$ ).  $\eta^2$  — степень влияния фактора,  $F$  — критерий Фишера,  $P$  — уровень значимости.

гранул в конгломераты наблюдаются раньше — в миелоцитах. Наибольшее их количество выявлено в миелоцитах и метамиелоцитах (табл. 1; см. рисунок, *e, ж*). Начиная с палочкоядерных форм, подобных конгломератов становится меньше, а в зрелых нейтрофилах периферической крови и костного мозга их количество относительно постоянно. Величина отдельных гранул в процессе дифференцировки нейтрофилов, наоборот, возрастает; в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах костного мозга и крови она больше, чем в менее зрелых формах (табл. 1). В нейтрофильных миелоцитах аномальные структуры состоят из светлого матрикса и мелких гранул, которые окрашиваются по методу Паппенгейма в кирпично-красный цвет. В зрелых нейтрофилах периферической крови аномальные структуры представлены гомогенным материалом, который окрашивается менее интенсивно (см. рисунок, *e—к*).

В табл. 1 представлены морфометрические параметры аномальных гранул в нейтрофилах и эозинофилах и результаты дисперсионного анализа этих показателей в клетках разных типов и разных стадий дифференцировки. Можно видеть, что количество и величина гранул изменяются в процессе клеточного созревания. Дисперсионный анализ подтвердил, что изменчивость параметров гранул зависит как от стадии развития клетки, так и от типа лейкоцита ( $P < 0.001$ ). Фактор зрелости клетки в большей степени оказывает влияние на изменение количества гранул, чем на их среднюю величину.

Особенности формирования дефекта гранулярных структур могут зависеть от продолжительности отдельных стадий процесса дифференцировки этих типов клеток. В исследованиях на грызунах обнаружено, что минимальное транзитное время от внесения метки ДНК предшественников до появления меченых клеток в крови у

эозинофилов меньше по сравнению с нейтрофилами (Козинец и др., 2011). В связи с этим представляют интерес данные, полученные в результате сравнительного анализа процессов гранулогенеза у бежевых мышей и мышей дикого типа (Hammel et al., 1987). Авторы сообщают, что у бежевых мышей величина гранул в тучных клетках значительно превышает таковую у дикого типа, а в ацинарных клетках поджелудочной железы различия не столь значительны. При этом продолжительность гранулогенеза в тучных клетках составляет от нескольких недель до нескольких месяцев, тогда как в ацинарных — несколько часов (Hammel et al., 1987).

С возрастом клеточный дефект при СЧХ-подобных заболеваниях проявляется по-разному у животных разных видов и в тканях разных типов. У некоторых пород кошек увеличенные структуры в клетках ретикулярного пигментного эпителия, являющиеся вторичными лизосомами или остаточными тельцами, чаще наблюдаются у взрослых, чем у молодых животных (Collier et al., 1986). У бежевых мышей по мере старения увеличивается количество пневмоцитов II типа с гигантскими ламеллярными тельцами и возрастают фиброз и инфильтрация легких лимфоцитами и макрофагами (Tang et al., 2005). Напротив, в около клубочковых клетках почек бежевых крыс не выявлено возрастных различий в величине и морфологии «гигантских» гранул (Ozaki et al., 1994).

В лейкоцитах щенков сапфировых норок признаки нарушения гранулогенеза неодинаково выражены в различные периоды онтогенеза. В эозинофилах на 4-е и 10-е сут после рождения внутриклеточное содержание гранул в среднем достоверно выше, а площадь одной гранулы, напротив, меньше, чем у норок более старшего возраста (табл. 2). Для нейтрофилов в раннем постнатальном онтогенезе по сравнению с последующими периодами ха-

рактерны относительно низкие показатели числа гранул и их площади: так, наименьшее количество гранул зафиксировано у 10-, а их минимальная величина — у 4-суточных щенков.

В раннем постнатальном онтогенезе проявления нарушений механизма гранулогенеза в лейкоцитах могут зависеть от особенностей гемопоэза у физиологически незрелых сапфировых норок. Ранее нами было установлено, что у щенков этого окраса в возрасте 4 и 10 сут в крови наблюдается высокий уровень молодых форм клеток — ядерных эритроцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Кроме того, показано, что у щенков сапфировых норок дефинитивный уровень лейкоцитов и дефинитивный состав крови устанавливаются позднее по сравнению со щенками других окрасов (Uzenbaeva et al., 2012).

В результате дисперсионного анализа установлено, что количество гранул в нейтрофилах и эозинофилах и их площадь в эозинофилах достоверно различаются у животных разного возраста (табл. 2). При этом наиболее значимым фактором, определяющим количество гранул, является тип клетки. Несмотря на то что величина гранул в эозинофилах неодинакова в различные периоды постнатального онтогенеза, ее изменчивость определяется всего лишь на 1.67 % возрастом животного.

Молекулярно-генетические аспекты патологических изменений лейкоцитов при СЧХ у человека и СЧХ-подобной аномалии у животных изучены недостаточно. На основании результатов исследований различных типов клеток — фибробластов, меланоцитов и лейкоцитов — была предложена модель, в которой важная роль отведена белку, принимающему участие в транспорте везикул. Вследствие его отсутствия или недостатка везикулы из трансзоны аппарата Гольджи не в состоянии перемещаться вдоль микротрубочек и соответственно впоследствии сливаться с лизосомами. Нарушение транспорта и аккумуляция везикул в перинуклеарном пространстве приводят к тому, что образуются их огромные конгломераты. Немаловажное значение отводится также особенностям строения и липидному составу клеточных мембран, характеризующихся при СЧХ большей текучестью по сравнению с нормой (Naak et al., 1979).

Таким образом, у норок сапфирового окраса в нейтрофилах и эозинофилах костного мозга и периферической крови наблюдаются «гигантские» гранулы. Они формируются при созревании лейкоцитов в костном мозге вследствие аномального объединения и слияния гранул, приводящих к их укрупнению и уменьшению количества. Признаки значительного увеличения гранул в нейтрофилах обнаружены уже в миелоцитах, а в эозинофилах особенно заметны на более поздних стадиях развития — в палочкоядерных и зрелых формах. Наибольшая степень нарушения (минимальное количество гранул и максимальная их величина) обнаружена у функционально более зрелых — палочкоядерных и сегментоядерных лейкоцитов запасного пула костного мозга и циркулирующих в периферической крови. Различия между морфометрическими параметрами гранул у животных разного возраста для лейкоцитов периферической крови менее значительны, чем для лейкоцитов костного мозга.

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что аномалия лейкоцитов у сапфировых норок имеет сходство с редким врожденным заболеванием — СЧХ человека и аналогичной патологией у некоторых видов жи-

вотных — и может быть использована для изучения как биогенеза гранул, так и механизма патологии лизосом.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта президента РФ (НШ-1410.2014.4), средств федерального бюджета (тема № 0221-2014-001).

### Список литературы

- Белюсов Ю. Б. (ред.). 2005. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации. М.: ОКИ. 156 с. (Belousov Yu. B. (ed.). 2005. Ethical review of biomedical investigations. Practical guidelines. Moscow. SCI. 156 p.)
- Вагин Ю. В. 2003. Роль гена *aleutian* в онтогенезе *Mustela vison*. Дарвиновский отбор *ppaa* потомства как результат конкуренции *ppAa* и *ppaa* бластоцист за места имплантации у *ppAa* самок норок. Биополимеры и клетка. 19 (2) : 157—163. (Vagin Yu. V. 2003. A role of the *aleutian* gene in *Mustela vison* ontogenesis. Darwin selection for *ppaa* progeny as a result of *ppAa* and *ppaa* blastocysts competition for places of implantation in *ppAa* mink females. Biopolimers and Cell. 19 (2) : 157—163.)
- Зверева Л. П., Беляев Д. К., Привалов Г. Н. 1976. Фенотипический анализ пигментации у мутантов американской норки (*Mustela vison* Schr.). Сообщение II. Генетика. 12 (2) : 104—109. (Zvereva L. P., Belayev D. K., Privalov G. N. 1976. Phenotypic analysis of pigmentation in mutants of American mink (*Mustela vison* Schr.) II. Genetica. 12 (2) : 104—109.)
- Козинец Г. И., Высоцкий В. В., Погорелов В. М., Еровиченков А. А., Малов В. А. 2001. Кровь и инфекция. М.: Триада-фарм. 456 с. (Kozinets G. I., Visockiy V. V., Pogorelov V. M., Erovichenkov A. A., Malov V. A. 2001. Blood and infection. Moscow: Triada-farm. 456 p.)
- Кост Е. А. (ред.). 1975. Справочник по лабораторным методам исследования. М.: Медицина. 384 с. (Kost E. A. (ed.). 1975. Handbook of laboratory methods of investigations. Moscow: Medicine. 384 p.)
- Узенбаева Л. Б., Голубева А. Г., Илюха В. А., Тютюник Н. Н. 2009. Влияние мутаций, затрагивающих окраску меха, на цитохимические особенности лейкоцитов крови у американской норки (*Mustela vison*, Schreber, 1777). Информ. вестн. ВОГиС. 13 (3) : 571—577. (Uzenbaeva L. B., Golubeva A. G., Ilyukha V. A., Tyutyunnik N. N. 2009. Effect of mutations affecting coat color on the blood leukocyte cytochemical specificity in American mink (*Mustela vison*, Schreber, 1777). Russ. J. Genet.: Appl. Res. 13 (3) : 571—577.)
- Узенбаева Л. Б., Кижина А. Г., Илюха В. А., Тютюник Н. Н. 2011. Аномальные цитоплазматические гранулы в лейкоцитах крови у норок сапфирового окраса (цитологическое и цитохимическое исследование). Морфология. 140 (6) : 60—64. (Uzenbaeva L. B., Kizhina A. G., Ilyukha V. A., Tyutyunnik N. N. 2011. Morphology and cytochemistry of abnormal cytoplasmic granules in blood leukocytes in sapphire minks (cytological and cytochemical study). Morfologiya. 140 (6) : 60—64.)
- Ayers J. R., Leipold H. W., Padgett G. A. 1988. Lesions in Brangus cattle with Chediak—Higashi syndrome. Vet. Pathol. 25 : 432—436.
- Beguez C. A. 1943. Neutropenia cronica maligna familiar con granulaciones atipicas de los leucocitos. Bol. Soc. Cub. Ped. 15 : 900—905.
- Chediak M. 1952. Nouvelle anomalie leucocytaire de caractere constitutional et familial. Rev. Hematol. 7 : 362—367.
- Collier L. L., King E. J., Prieur D. J. 1986. Age-related changes of retinal pigment epithelium of cats with Chediak—Higashi syndrome. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 27 : 702—707.
- Davis W. C., Spicer S. S., Greene W. B., Padgett G. A. 1971. Ultrastructure of cell in bone marrow of normal mink and mink with the homologue of the Chediak—Higashi trait of humans. II. Cytoplasmic granules in eosinophils, basophils, mononuclear cells and platelets. Amer. J. Pathol. 63 : 411—427.

- Diukman R., Tanigawara S., Cowan M. J., Golbus M. S. 1992. Prenatal diagnosis of Chediak—Higashi syndrome. *Blood*. 72 : 877—885.
- Essner E., Oliver C. 1974. Lysosome formation in hepatocytes of mice with Chediak—Higashi syndrome. *Lab. Invest.* 30 : 596—607.
- Fagerland J. A., Hagemoser W. A., Ireland W. P. 1987. Ultrastructure and stereology of leukocytes and platelets of normal foxes and a fox with Chediak—Higashi-like syndrome. *Veter. Pathol.* 24 : 164—169.
- Haak R. A., Ingraham L. M., Baehnen R. L., Boxer A. 1979. Membrane fluidity in human and mouse Chediak—Higashi leukocytes. *J. Clin. Invest.* 64 : 138—144.
- Hammel I., Dvorak A. M., Galli S. J. 1987. Defective cytoplasmic granule formation. I. Abnormalities affecting tissue mast cells and pancreatic acinar cells of beige mice. *Lab. Invest.* 56 : 321—328.
- Higashi O. 1954. Congenital gigantism of peroxidase granules; the first case ever reported of qualitative abnormality of peroxidase. *Tohoku. J. Exp. Med.* 59 : 315—332.
- Huizing M., Helip-Wooley A., Westbroek W., Gunay-Aygun M., Gahl W. A. 2008. Disorders of lysosome-related organelle biogenesis: clinical and molecular genetics. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 9 : 359—386.
- Introne W., Boissy R. E., Gahl W. A. 1999. Clinical, molecular, and cell biological aspects of Chediak—Higashi syndrome. *Mol. Genet. Metab.* 68 : 283—303.
- Kimball H. R., Ford G. H., Wolff S. M. 1975. Lysosomal enzymes in normal and Chediak—Higashi blood leukocytes. *J. Lab. Clin. Med.* 86 : 616—630.
- Kjeldsen L., Calafat J., Borregaard N. 1998. Giant granules of neutrophils in Chediak—Higashi syndrome are derived from azurophil granules but not from specific and gelatinase granules. *J. Leukoc. Biol.* 64 : 72—77.
- Kramer J. W., Davis W. C., Prieur D. J. 1977. The Chediak—Higashi syndrome of cats. *Lab. Invest.* 36 : 554—562.
- Leader R. W., Padgett G. A., Gorham J. R. 1963. Studies of abnormal leukocyte bodies in the mink. *Blood*. 22 : 477—484.
- Lutzner M. A., Tierny J. H., Bendiff E.P. 1966. Giant granules and widespread cytoplasmic inclusions in a genetic syndrome of Aleutian mink. *Lab. Invest.* 14 : 2063—2079.
- Ness N., Liim B., Sjaastad O., Blom A., Lohi O. 1985. A norwegian pearl fox (*Ombeg pearl*) with Chediak—Higashi syndrome and its relationship to other pearl-mutations. *Scientifur.* 9 : 197—199.
- Nishimura M., Inoue M., Nakano T., Nishikawa T., Miyamoto M., Kobayashi T., Kitamura Y. 1989. Beige rat a new animal model of Chediak—Higashi syndrome. *Blood*. 74 : 270—273.
- Oliver C., Essner E. 1973. Distribution of anomalous lysosomes in the beige mouse: a homologue of Chediak—Higashi syndrome. *J. Histochem. Cytochem.* 21 : 218—228.
- Ozaki K., Maeda H., Uechi S., Yamate H., Nishikawa T., Nishimura M., Narama I. 1994. The presence of giant granules in the juxtaglomerular cells of beige rats may affect plasma rennin activity and blood pressure. *Exp. Mol. Pathol.* 61 : 221—229.
- Ridgway S. H. 1979. Reported causes of death of captive killer whales (*Orcinus orca*). *J. Wildl. Dis.* 15 : 99—104.
- Roder J., Duwe A. 1979. The beige mutation in the mouse selectively impairs natural killer cell function. *Nature*. 278 : 451—453.
- Tang X., Yamanaka S., Miyagi Y., Nagashima Y., Nakatani Y. 2005. Lung pathology of pale ear mouse (model Hermansky—Pudlak syndrome 1) and beige mouse (model of Chediak—Higashi syndrome): severity of giant lamellar body degeneration of type II pneumocytes correlates with interstitial inflammation. *Pathol. Int.* 55 : 137—143.
- Uzenbaeva L. B., Kizhina A. G., Tyutyunnik N. N., Ilukha V. A. 2012. Peculiarities of haemopoiesis in early postnatal development of mink (*Mustela vison* Schreber, 1777). In: Materials of International Scientific Conference «Presence and future of animal science» June 21—22. Krakow. 204.

Поступила 23 III 2015

#### MORPHOLOGICAL FEATURES OF NEUTROPHILS AND EOSINOPHILS GRANULES IN SAPPHIRE MINKS

L. B. Uzenbaeva, A. G. Kizhina,<sup>1</sup> V. A. Ilyukha

Institute of Biology, Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, 185910;  
<sup>1</sup> e-mail: golubewa81@yandex.ru

It has been established that sapphire minks have abnormality of subcellular structure of blood and bone marrow neutrophils and eosinophils. The abnormality consists in forming of abnormal «giant» granules. The size and the number of abnormal granules significantly change during maturation of leucocytes in bone marrow. We have found differences between abnormal granules forming in neutrophils and eosinophils that depend on the maturing stage and the cells life cycle duration as well as morphofunctional features of these granulocytes.

Key words: neutrophils, eosinophils, abnormal granules, sapphire minks.