

ВЕСТНИК САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО УНИВЕРСИТЕТА	СЕРИЯ 7 БИОЛОГИЯ	ВЫПУСК 4 ДЕКАБРЬ 2007
--	--------------------------------	-------------------------------------

Научно-теоретический журнал
Издается с августа 1946 года

СОДЕРЖАНИЕ

Зоология

- Хайтов В. М., Артемьева А. В., Горных А. Е., Жижина О. Г., Яковис Е. Л.*
Роль мидиевых друз в структурировании сообществ илисто-песчаных пляжей.
I. Состав сообщества, связанного с друзьями, на Беломорской литорали 3
- Хайтов В. М., Артемьева А. В., Горных А. Е., Жижина О. Г., Яковис Е. Л.*
Роль мидиевых друз в структурировании сообществ илисто-песчаных пляжей.
II. Формирование сообщества в эксперименте 13
- Филимонова Н. С.* Фотопериодический контроль постовенальной линьки
лесного конька *Anthus trivialis* (L.) 27

Генетика

- Чунаев А. С., Барабанова Л. В., Дукаревич М. М., Магомедова З. М.*
Эколого-генетическая характеристика биотопов прибрежной зоны Белого моря 37
- Карабельский А. В., Падкина М. В.* Рекомбинантные интерфероны-альфа человека
продолжительного действия 45

Гидробиология

- Максимович Н. В., Герасимова А. В.* О характере элиминации
в поселениях массовых видов двусторчатых моллюсков Белого моря 54
- Иванов М. В., Чивилев С. М.* Долговременная сукцессия бентоса
под хозяйствами марикультуры мидий в Белом море 63

Гистология, иммунология

- Кудрявцев И. В., Дьячков И. С., Могиленко Д. А., Харазова А. Д., Полевицков А. В.*
Продукция активных форм кислорода целомоцитами иглокожих: влияние лектинов и цитокинов 73
- Сухачев А. Н., Кудрявцев И. В., Дьячков И. С., Николаев К. Е., Харазова А. Д., Полевицков А. В.*
Особенности реакций врожденного иммунитета мидии *Mytilus Edulis* 80

Физиология, биохимия, биофизика

- Марков А. Г., Вешнякова А. Ю.* Экспрессия белков плотных контактов в эпителии
толстой кишки крысы 86
- Батуев А. С., Курзина Н. П., Воеводина О. В., Петрова Н. Н., Планина Ю. В., Султанов И. Ю.*
Сравнительная характеристика процессивности и внимания
у женщин и мужчин с алкогольной зависимостью 93
- Иношин М. Ю., Вольнова А. Б., Сибаров Д. А., Хименес-Ривера К. А.* Динамика захвата повышенных
концентраций дофамина в мозге крысы зависит от низкоафинных переносчиков моноаминов. 102



ИЗДАТЕЛЬСТВО
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Вестник
© Санкт-Петербургского
университета, 2007

Физиология и биохимия растений

Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И. Динамика содержания фотосинтетических пигментов в ходе онтогенеза *Fucus vesiculosus L.* 111

Краткие научные сообщения

Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г. Электрокинетическая структура эритроцитарных популяций и функциональное состояние организма 119

Зеленников О. В., Мищенко О. В., Отставная Е. Г. Морфофизиологический анализ состояния яичников у молоди чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* W. естественного и заводского происхождения 125

Рефераты 129

ГЛАВНАЯ РЕДКОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

Главный редактор **Л. А. Вербицкая**

Заместители главного редактора: **Н. М. Кропачев, И. А. Горлинский**

Члены редколлегии: **А. Ю. Дворниченко, В. В. Дмитриев, С. Г. Инге-Вечтомов, А. Г. Морачевский, Ю. В. Перов, Т. Н. Пескова, С. В. Петров, Л. А. Петросян, Н. В. Расков, В. Т. Рязанов, Р. В. Светлов, В. Г. Тимофеев, П. Е. Товстик**

Ответственный секретарь **С. П. Заикин**

Редакционная коллегия серии:

*С. Г. Инге-Вечтомов (отв. редактор), Н. В. Кулева (секретарь),
Б. Ф. Апарин, В. Г. Борхвардт, И. В. Канунников, Р. В. Камелин, С. С. Медведев,
Д. В. Осипов, А. А. Паутов*

Редактор *Т. А. Шереметьева*

Верстка *П. О. Савченков*

**На наш журнал можно подписаться по каталогу «Газеты и журналы» «Агентства „Роспечать“».
Подписной индекс 36847.**

Подписано в печать ???.?.?.?. Формат 70 × 100 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. ???, Уч.-изд. л. ???, Тираж 250 экз. Заказ № ???.

Адрес редакции: 199004. С.-Петербург, В. О., 6-я линия, д. 11/21, комн. 319.

Тел. (812) 325-26-04, тел./факс (812) 328-44-22; E-mail: vestnik6@rambler.ru; <http://vesty.unipress.ru>

Типография Издательства СПбГУ.
199061. С.-Петербург, Средний пр., 41.

УДК 592:591.113:612.017

А. Н. Сухачев, И. В. Кудрявцев, И. С. Дьячков, К. Е. Николаев, А. Д. Харазова, А. В. Полевщиков

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА МИДИИ *MYTILUS EDULIS*¹

Введение. Врожденный иммунитет — один из самых древних и эффективных механизмов защиты организма. Появляясь впервые у губок, он не утрачивает своего значения у всех многоклеточных животных, включая высших позвоночных. Изучение способов защиты в различных филогенетических группах является актуальной задачей, так как изучение этапов становления врожденного и приобретенного иммунитета позволяет установить причины эффективности ныне существующих защитных реакций. Важной формой защитных реакций у беспозвоночных являются паразит-хозяинные взаимодействия, которые нередко приобретают существенное медицинское и ветеринарное значение, например, в системе моллюск *Biomphalaria glabrata* — трематода *Schistosoma mansoni* [5]. Всем трематодам присущ сложный жизненный цикл с чередованием полового и бесполого размножения. Разные стадии цикла проходят со сменой хозяев. К числу наиболее опасных трематод, помимо *Schistosoma mansoni*, относятся *Dicrocoelium lanceatum*, *Opisthorchis felineus*, *Fasciola hepatica*. Экспериментальные работы на этих объектах не всегда возможны, поэтому обычной является практика использования разнообразных моделей, частично повторяющих определенные стадии их жизненного цикла. Одной из значимых и удобных для изучения моделей является пара моллюск *Mytilus edulis* — трематода *Hymasthla elongata*.

До настоящего времени у беспозвоночных не найдено механизмов приобретенного иммунитета, основанных на высокой специфичности распознавания через молекулы иммуноглобулинового суперсемейства и сопровождающихся формированием иммунологической памяти, что характерно для позвоночных [14]. Тем не менее циркулирующие клетки беспозвоночных, в том числе и моллюсков, способны к распознаванию патогенов и цитотоксической реакции против чужеродной клетки или патогена [8].

Исследования врожденного иммунитета беспозвоночных демонстрируют филогенетическое сходство используемых организмами стратегий для ответа инфекции. Двустворчатые моллюски формируют как клеточные, так и гуморальные реакции врожденного иммунитета [7]. Ключевую роль в защитных реакциях моллюсков играют форменные элементы гемолимфы — гемоциты, найденные у всех двустворчатых моллюсков, кроме морского гребешка [17]. Гемоциты способны к хемотаксису, адгезии, фагоцитозу, генерации активных форм кислорода, а также внутриклеточному накоплению микробицидных факторов [1]. Гемоциты по результатам градиентного центрифугирования условно можно разделить на три фракции. [19]. Верхняя (самая легкая) фракция содержит 97% базофильных клеток, нижняя (самая тяжелая) — 84% эозинофильных клеток, а средняя фракция фактически представляет собой смесь базофильных и эозинофильных клеток. Возможно, нижний слой может подразделяться на две

¹ Работа поддержана РФФИ (грант № 07-04-00084 и 07-04-00095).

близко лежащие субпопуляции [19]. При этом верхний слой в основном представлен агранулярными, а нижний — гранулярными клетками, но состав и свойства популяций зависят от времени года, места обитания животного, а также от температуры и солёности морской воды [10]. Именно гранулоциты легко идентифицируются среди всех гемоцитов моллюсков [9]. Гранулы различаются по размеру, форме и способности к связыванию с гистологическими красителями, а также по набору ферментов [18]. Существуют значительные межвидовые вариации в численности и характере гранул гемоцитов, часть гранул несомненно является лизосомами [9, 11].

После фагоцитоза бактерий количество гранул в цитоплазме гранулоцитов уменьшается [6]. Наиболее активными фагоцитами являются гранулярные клетки, хотя клетки других фракций также обладают этой способностью [19]. При этом именно гранулоциты обладают пероксидазной активностью, а также способностью уничтожать небольшие чужеродные частицы путем секреции гидролитических ферментов. Процесс фагоцитоза инородных частиц связан с активацией кислородного метаболизма фагоцитов и продукцией активных форм кислорода, обеспечивающих деструкцию клеточных мембран паразита.

Для реализации фагоцитарной активности гемоцитов необходима адгезия — способность прилипнуть к структурам собственной соединительной ткани, друг к другу, эндотелию сосудов, либо к поверхности паразита. Для реализации процесса адгезии, как и фагоцитоза, часто возникает потребность в дополнительных белках, устанавливающих связи между клеткой и субстратом (в случае адгезии) или клеткой и объектом фагоцитоза. Нередко этими белками становятся лектины — углеводсвязывающие белки или гликопротеины неиммунной природы, агглютинирующие или преципитирующие гликоконъюгаты, локализованные на клеточных поверхностях. [2, 4]. Участие лектинов в защитных реакциях показано на двустворчатых моллюсках: *Mytilus edulis*, *Mercenaria mercenaria*, *Pictada fucata* и других [3]. Лектины служат опсонизирующими факторами, а также необходимы для осуществления адгезии гемоцитов к чужеродным частицам. Поэтому логично предположение о мембранных и сывороточных лектинах как основе распознавания «несвоего» у двустворчатых [22]. Целью нашей работы было изучение основных параметров реакций врожденного иммунитета мидии *Mytilus edulis* в отсутствие паразитарной инвазии.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования стали мидии *Mytilus edulis*, собранные в июле — сентябре 2006 г. на базе Беломорской биологической станции «Картеш» им. О.А.Скарлато Зоологического института РАН. Всего в экспериментах было использовано более 100 животных возрастом 4–6 лет. Основные исследования были направлены на изучение свойств циркулирующих гемоцитов моллюска. Гемолимфу с клетками получали в туберкулиновый шприц из задней мышцы-смыкателя раковины и консервировали 5% (по объему) 0,3 М раствора ЭДТА на фильтрованной морской воде (ФМВ). Перед использованием полученные клетки хранили на льду. Клетки отделяли от гемолимфы центрифугированием при 200g и отмывали от содержащей ЭДТА гемолимфы модифицированным раствором Дальбекко без Ca^{2+} и Mg^{2+} , содержащим 25 г/л NaCl (в дальнейшем — раствор Дальбекко-М).

Оценку поглощения меченых модельных антигенов (меченые ФИТЦ бактерии *E.coli*) гемоцитами проводили на проточном цитометре COULTER EPICS ALTRA (Beckman Coulter, Inc., USA). Для исследования клеточных фракций использовали цитометрические параметры FS (прямое светорассеивание), PMT1 (боковое светорассеивание), PMT2 (интенсивность поглощения — 520 нм), которые оценивались по 30 000 событиям для каждой из проб. Фагоцитарный индекс высчитывался автоматически в программе Epics Elite Expro32 (Coulter, Hialeah, FL, USA). [12].

Также была оценена фагоцитарная способность гемоцитов мидий. Осажденные путем центрифугирования (200g, 5 мин) клетки переводили в 1 мл ФМВ, и после подсчета в камере Горяева устанавливали концентрацию клеток равной 2 млн в 1 мл фильтрованной морской

воды. Клеточную суспензию вносили по 100 мкл в 96-луночные плоскодонные планшеты (Sarstedt) и параллельно оценивали уровни НСТ-теста и теста поглощения нейтрального красного. Для определения спонтанного показателя поглощения нейтрального красного и НСТ-теста в лунки добавляли по 50 мкл ФМВ, а для определения индуцированного показателя добавляли равный объем 0,4%-ой суспензии зимозана («Нева-Реактив», Санкт-Петербург) или ЛПС из клеточной стенки *S.typhi*. **Планшеты инкубировали в течение 6 ч при температуре, соответствовавшей температуре морской воды в этой время года (около 8–10°С).** По завершении инкубации проводили автоматизированный учет результатов на многоканальном спектрофотометре ПИКОН (Москва). В случае НСТ-теста гранулы диформаза растворяли в смеси ДМСО и КОН и учитывали при длине волны 620 нм, а в тесте поглощения нейтрального красного краситель экстрагировали 1%-ной уксусной кислотой в 50°-ном этаноле с учетом при 530 нм [13]. Надосадок резко удаляли с помощью декантирования. Для фиксации образцов НСТ-теста в каждую из лунок вносили по 50 мкл 96°-ного этанола. Результат выражали в единицах ОП на $2 \cdot 10^5$ гемцитов.

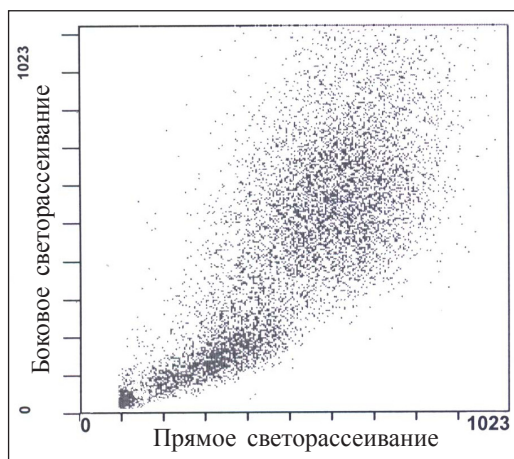
Для изучения гемолитической активности циркулирующих клеток *M.edulis* была использована безжелевая модификация реакции локального гемолиза по Н. К. Эрне. В качестве клеточных мишеней использовались как интактные, так и опсонизированные различными лектинами эритроциты человека (ЭЧ). Вначале были подобраны концентрации лектинов (ConA, ФГА, пшеница, картофель, бузина черная, арахис, соя, виноградная улитка, чечевича, горох), обладавшие субагглютинирующим и сублизирующим действием. Далее оценивали способность гемцитов *M.edulis* к лизису ЭЧ, покрытых лектинами. Гемциты переводили в среду RPMI-1640 с содержанием NaCl 25 г/л, обогащенную L-глутамином, HEPES и антибиотиками, устанавливая концентрацию равной 60 тыс. клеток в 1 мл среды. Клеточную суспензию вносили в 96-луночный планшет (Sarstedt) по 200 мкл, и к клеткам добавляли 25 мкл 4%-ной суспензии ЭЧ, предобработанных лектинами. Подобранные концентрации лектинов смешивали с ЭЧ и инкубировали в течении 40 мин при 37°С, затем отмывали в 3ФР и выводили концентрацию равную 4%. После 3 ч инкубации при 10°С каждую лунку фотографировали на бинокуляре Leica с использованием камеры Canon PowerShot G6 для подсчета числа зон гемолиза, и оценивали выход гемоглобина из ЭЧ по ОП надосадков при 405 нм на многоканальном спектрофотометре ПИКОН (Москва). Параллельно исследовалась способность гемцитов, предобработанных лектинами, к лизису нативных ЭЧ. Суть эксперимента такая же, как описано выше. Только в этот раз лектинами обрабатывали не ЭЧ, а гемциты мидии.

Сравнивали эффекты лектинов в отношении нативных и десенсибилизированных ЭЧ при культивировании с гемцитами мидии. Гемциты переводили в среду RPMI-1640 с содержанием NaCl 25 г/л, обогащенную L-глутамином, HEPES и антибиотиками, устанавливая концентрацию равной 60 тыс. клеток в 1 мл среды. Клеточную суспензию вносили в 96-луночный планшет (Sarstedt) по 200 мкл, и к клеткам добавляли 25 мкл 4%-ной суспензии ЭЧ. Для оценки природы распознаваемых гемцитами мидий детерминант использовали как нативные ЭЧ, так и ЭЧ, обработанные в течение 1 ч при 37°С 1%-ным раствором трипсина (Difco, США) (трипсинизированные ЭЧ, тЭЧ). После 3 ч инкубации при 10°С каждую лунку фотографировали на бинокуляре Leica с использованием камеры Canon PowerShot G6 для подсчета числа зон гемолиза, и оценивали выход гемоглобина из ЭЧ по ОП надосадков при 405 нм.

Результаты исследования. С использованием метода проточной цитометрии показано, что пул циркулирующих гемцитов содержит как минимум два типа клеток, которые различаются по размерам и гранулярности. Результаты анализа приведены на рисунке. Наиболее вероятно, что выявленные клетки соответствуют гранулоцитам и промежуточным клеткам. Можно также предполагать наличие третьей популяции клеток, предположительно соответствующей гиалиноцитам. Определение процента гемцитов, обладающих фагоцитарной способностью в отношении меченых ФИТЦ *E. coli*, проведенное также с помощью проточного цитофлюориметра, показало, что около 43% гемцитов обладали фагоцитарной активностью.

Результаты НСТ теста и теста поглощения нейтрального красного приведены в таблице. Обнаружено, что гемциты активно взаимодействуют с корпускулярным

антигеном зимозаном, отвечая на него повышением продукции активных форм кислорода на 30,67% ($p < 0,05$) по сравнению со спонтанной продукцией, но не изменяют уровня кислородного метаболизма при взаимодействии с растворимым ЛПС. Сходные данные получены при оценке способности гемоцитов мидии к поглощению витального красителя — нейтральный красный. В этом случае тоже наблюдался ответ только на частицы зимозана (усиление эндоцитоза на 32,43% по сравнению с уровнем спонтанного эндоцитоза, $p < 0,05$), и отсутствовал ответ на ЛПС (см. таблицу)



Dot Plot FS/PMT-1 с изображением гемоцитов мидии *Mytilus edulis*.

Установлено, что обработка ЭЧ некоторыми лектинами (картофеля, сои, пшеницы, бузины черной, арахиса и виноградной улитки) усиливала разрушение эритроцитов гемоцитами *M. edulis*, в то время как обработка ЭЧ другими лектинами не влияла на этот процесс (ФГА и ConA) или даже тормозила его (чечевицы, гороха). Предобработка свободными лектинами клеток мидии с последующей отмывкой несвязавшихся лектинов в целом не приводила к изменению гемолитической активности гемоцитов *M. edulis* по отношению к интактным ЭЧ по сравнению с контролем. Наконец, десиализация ЭЧ раствором трипсина приводила к снижению уровня гемолиза, трипсинизированных ЭЧ гемоцитами мидий по сравнению с интактными ЭЧ, сохранявшими полный набор углеводных молекул в своем гликокаликсе.

Обсуждение результатов исследования. Наиболее вероятно, что два типа клеток, выявленных благодаря цитофлюориметрическому анализу, соответствуют гранулоцитам и промежуточным клеткам. Результаты проточной цитометрии дают основание для предположения о существовании третьей популяции клеток, предположительно соответствующей гиалиноцитам. В литературе сведения о количестве клеточных популяций у мидии разнятся. Некоторые авторы выделяют 3 клеточных типа: лимфоциты, макрофаги и гранулоциты [16], в то время как по другим данным их всего два: гранулярные и агранулярные гемоциты [19]. Наиболее вероятно, гранулоциты являются обособленным типом клеток, в то время как агранулоциты подразделяются на разные популяции: истинные агранулярные клетки на разных стадиях развития, а также дегранулированные гранулоциты.

Полученные данные свидетельствуют о наличии 43% фагоцитирующих клеток в пуле гемоцитов. Известно, что наиболее активными фагоцитами являются гранулоциты, хотя и другие популяции тоже способны фагоцитировать [19, 21]. При этом

Оценка способности гемоцитов мидий к поглощению нейтрального красного и продукции активных форм кислорода, ед. ОП, X ±s.

Показатель	ФМВ	Зимозан	ЛПС
Поглощение нейтрального красного, $n \geq 24$	0,075 ± 0,008	0,111 ± 0,011*	0,071 ± 0,014
НСТ-тест, $n \geq 24$	0,373 ± 0,032	0,538 ± 0,056*	0,364 ± 0,041

* Различия с контролем (ФМВ) достоверны при $p < 0,05$ по t -критерию.

стоит принять во внимание, что численность гемоцитов зависит от многих факторов: времени года, температуры, солености, инвазии паразита. Например, численность гемоцитов у *Mytilus edulis* превышает $8 \cdot 10^6$ кл/мл, однако при попадании в организм моллюска инородных объектов также значительно увеличивается [20]. Аналогично при искусственном заражении моллюсков *Crassostrea virginica* происходило увеличение числа гранулоцитов в гемолимфе [9].

При рассмотрении результатов НСТ-теста и теста поглощения нейтрального красного интересным является факт усиления кислородного метаболизма и эндоцитоза под действием только корпускулярных, но не растворимых стимуляторов. Возможно, это происходит вследствие того, что для эндоцитоза ЛПС необходимы белки связывания (LBP подобные белки), которые присутствуют в гемолимфе и синтезируются гемоцитами [15]. Поскольку в соответствии с избранной методикой клетки перед внесением в культуры отмывали, то все белки гемолимфы тоже были удалены. Не исключено, что для фагоцитоза корпускулярных частиц не нужно белков гемолимфы, тогда как для растворимых агентов они необходимы.

В экспериментах определения гемолитической активности гемоцитов было показано, что гемоциты мидии обладают цитотоксической активностью в отношении ЭЧ. Обработка ЭЧ лектинами оказывает влияние на процесс гемолиза, что не удивительно, так как лектины являются опсонизирующим фактором, т. е. усиливают фагоцитоз, а также способствуют узнаванию чужеродного материала гемоцитами. Более того гемоциты некоторых моллюсков (*Corbicula fluminea*) не способны к фагоцитозу в отсутствие лектинов [22]. При этом не исключено, что лектины играют роль вспомогательных молекул, и их роль начинает увеличиваться в экстремальных условиях, например, при сильном понижении температуры. При обратном эксперименте, т. е. при обработке гемоцитов лектинами, изменений по отношению к контролю (нативные гемоциты) не наблюдалось. Можно предположить, что некоторые лектины закрывают определенные рецепторы на клетках мидии, тем самым понижая гемолиз. Опыт с трипсинизированными ЭЧ показал, что гемолиз идет активнее в случае нативных ЭЧ. Это может свидетельствовать о том, что гемоциты распознают углеводные детерминанты на поверхности клеток-мишеней.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что гемоциты мидий обладают фагоцитарной активностью, способностью к продукции активных форм кислорода и цитотоксической активностью в отношении ЭЧ. Наиболее вероятно, что гемоциты распознают углеводные детерминанты на поверхности клеток-мишеней. Повидимому, в противопаразитарных реакциях сочетаются две стратегии защиты: одна связанная с изоляцией паразита, другая — направленная на его элиминацию, которые осуществляются разными популяциями гемоцитов и/или требуют их кооперации.

Summary

Sukhachev A.N., Kudryavtsev I.V., Dyachkov I.S., Nikolaev K.E., Polevshnikov A. V., Kharazova A. D. Characterization of *Mytilus edulis* innate immunity reactions.

This article is devoted to the investigation of molluscan defense reactions in response to different model antigens. Mussels hemocytes are capable of distinguishing and phagocyte corpuscular and soluble antigens, production reactive oxygen species and neutral red uptake as well as destroying human red blood cells. It suggests that mussels hemocytes recognize cell surface carbohydrates on target cells.

Литература

1. Атаев Г.Л., Полевицкий А.В. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. 1. Клеточные реакции // Паразитология. 2004. Т. 38. Вып. 4. С. 342–352. 2. Крылов И.Н. Древнейшие следы

жизни на Земле // Природа. 1968. № 11. С. 41–55. 3. Лоенко Ю. Н., Глазкова В. Е., Артюков А. А. Лектины морских беспозвоночных // Успехи соврем. биологии. 1992. Т. 112, № 5–6. С. 785–794. 4. Полевщиков А. В. Лектины в защитных реакциях беспозвоночных // Журн. общ. биологии. 1996. Т. 57, № 6. С. 718–739. 5. Ataev G. L., Coustau Ch. Cellular response to *Echinostoma caproni* infection in *Biomphalaria glabrata* strains selected for susceptibility/resistance // Dev. Comp. Immunol. 1999. Vol. 23. P. 187–198. 6. Cheng T. C. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes // Ann. New York Acad. Sci. 1975. Vol. 266. P. 343–379. 7. Cheng T. C. Bivalves. // Invertebrate Blood Cells. New York; 1981. P. 233–300. 8. Cooper E. L., Rinkevich B., Uhlenbruck G. et al. Invertebrate immunity: another viewpoint // Scand. J. Immunol. 1992. Vol. 35. P. 247–266. 9. Feng, S. Y., Feng, J. S., Burke, C. N. et al. Light and electron microscopy of the hemocytes of *Crassostrea virginica* (Mollusca-Pelecypoda) // Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 1971. Vol. 120. P. 225–243. 10. Fisher W. S., Oliver L. M., Edwards P. Hematologic and serologic variability of eastern oysters from Apalachicola Bay, Florida // J. Shellfish Res. 1996. Vol. 15. P. 555–564. 11. Foley D. A., Cheng T. C. Interaction of molluscs and foreign substances: the morphology and behavior of hemolymph cells in the American oyster, *Crassostrea virginica*, *in vitro* // J. Invert. Path. 1972. Vol. 19. P. 383–394. 12. Goedken M., De Guise S. Flow cytometry as a tool to quantify oyster defence mechanisms // Fish Shellfish Immunol. 2004. Vol. 16. P. 539–552. 13. Hauton Ch., Smith V. J. In vitro cytotoxicity of crustacean immunostimulants for lobster (*Homarus gammarus*) granulocytes demonstrated using the neutral red uptake assay // Fish Shellfish Immunol. 2004. Vol. 17. P. 65–73. 14. Klein J. Are invertebrates capable of anticipatory immune responses? // Scand. J. Immunol. 1989. Vol. 29. P. 499–505. 15. Mitta G., Galinier R., Tisseyre P. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes // Dev. Comp. Immunol. 2005. Vol. 29. P. 393–407. 16. Moore N. M., Lowe D. M. The cytology and cyrochemistry of *Mytilus edulis* and their responses to experimentally injected carbon particles // J. Invert. Path. 1975. Vol. 29. P. 18–30. 17. Mortensen S. H., Glette J. Phagocytic activity of scallop (*Pecten maximus*) haemocytes maintained *in vitro* // Fish Shellfish Immunol. 1996. Vol. 6. P. 111–121. 18. Pipe R. K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis* // Histochemical J. 1990. Vol. 22. P. 595–603. 19. Pipe R. K., Farley S. R., Coles J. A. The separation and characterisation of haemocytes from the mussel *Mytilus edulis* // Cell Tissue Res. 1997. Vol. 289. P. 537–545. 20. Pipe R. K., Coles J. A., Thomas M. E. Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussel from the Venice Lagoon // Aquatic Toxicology. 1995. Vol. 32. P. 59–73. 21. Reade P., Reade E. Phagocytosis in invertebrates: studies on the hemocytes of the clam *Tridacna maxima* // J. Invert. Path. 1976. Vol. 28. P. 281–290. 22. Tripp M. R. Agglutinins in the hemolymph of the hard clam, *Mercenaria mercenaria* // J. Invert. Path. 1992. Vol. 59. P. 228–234.

Статья принята к печати 15 мая 2007 г.