

УДК 594.38 + 591.113.1 + 571.27

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ЛЕГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ ПРИ ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИИ

© 2020 г. Г. Л. Атаев*, Е. Е. Прохорова, А. С. Токмакова

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,
кафедра зоологии, лаборатория экспериментальной зоологии,
наб. р. Мойки, д. 48, Санкт-Петербург, 191186 Россия
*e-mail: ataev@herzen.spb.ru

Поступила в редакцию 27.07.2020 г.

После доработки 21.08.2020 г.

Принята к печати 27.08.2020 г.

В последние десятилетия во всем мире активно изучаются защитные реакции легочных моллюсков. В результате накоплены многочисленные сведения о различных аспектах иммунного ответа pulmonat как на клеточном, так и на гуморальном уровнях. Анализ этого материала в последние годы посвящено несколько обзорных статей (Adema, Loker, 2015; Pila et al., 2016a; Melillo et al., 2018; Li et al., 2020). Однако в отечественной литературе подобные работы опубликованы более пятнадцати лет назад (Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев и др., 2005а, б; Галактионов, 2005). Именно с целью обобщения современных представлений об иммунном ответе легочных моллюсков и обозначения основных проблем, связанных с их изучением, выполнен данный обзор. В работе рассматриваются защитные реакции моллюсков на различные факторы иммунизации, но основное внимание уделяется иммунным реакциям на трематодную инвазию. Это обусловлено не только большим значением pulmonat как промежуточных хозяев трематод, но и ролью последних в развитии иммунитета моллюсков.

Ключевые слова: легочные моллюски, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, гемоциты, гемопоэз

DOI: 10.31857/S1234567806050028

У позвоночных животных наряду с системой врожденного иммунитета функционирует система адаптивного иммунитета. Ее отличительными признаками являются способность распознавать антигены и реагировать на них с образованием клонов лимфоцитов и высокоаффинных антител, а также наличие клеточной иммунной памяти, которая позволяет более эффективно реагировать на патоген при повторной иммунизации.

Долгое время существование подобной защитной системы у беспозвоночных большинством ученых не допускалось из-за отсутствия у этих животных «истинных» лимфоцитов и антител. Однако в последнее время стали появляться данные, свидетельствующие о наличии у представителей различных групп беспозвоночных, прежде

всего у моллюсков и артропод, защитных механизмов, демонстрирующих признаки адаптивного иммунитета (Rowley, Powell, 2007; Adema, Loker, 2015; Gourbal et al., 2018 и др.). В частности, беспозвоночные животные могут быстрее и эффективнее реагировать на чужеродный фактор при повторной иммунизации. Доказательства наличия иммунологической памяти у беспозвоночных получены при проведении исследований инфекционного иммунитета, трансплантационного иммунитета и иммунного праймирования с использованием чужеродных молекул. В то же время остаются дискуссионными многие вопросы, прежде всего связанные с раскрытием механизмов иммунных реакций, включая иммунологическую память (Gourbal et al., 2018; Melillo et al., 2018).

Современная концепция врожденного иммунитета, основанная на способности клеток распознавать патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (образы патогенности) (Janeway, Medzhitov, 2002), позволила по-новому взглянуть на проблему специфичности в системе врожденного иммунитета. Выяснилось, что явление групповой специфичности к патогенам – важная характеристика клеток врожденного иммунитета, которая реализуется благодаря наличию у них разнообразных патоген-распознающих рецепторов. В то же время, раскрытие путей реализации основных форм адаптивного иммунного ответа показало невозможность его запуска и реализации без компонентов системы врожденного иммунитета. Это привело к пересмотру самого понятия «специфичность», в том числе и в отношении беспозвоночных животных. При этом механизмы защитных реакций беспозвоночных могут различаться как по продолжительности, так и по специфичности в зависимости от природы патогена (Adema, Loker, 2015).

Традиционно рассматриваются два аспекта иммунных реакций животных: клеточный и гуморальный. Однако ключевым звеном осуществления иммунных реакций на любом уровне признаются циркулирующие клетки, которые, кроме участия в элиминации чужеродного, также задействованы в образовании гуморальных факторов (Adema, Loker, 2015). Соответственно, провести четкую границу между клеточным и гуморальным иммунитетом зачастую невозможно (рис. 1).

Моллюски среди беспозвоночных обладают одними из наиболее сложных и эффективных иммунных реакций. Данный обзор посвящен анализу защитных реакций легочных моллюсков, которые в настоящее время, наряду с насекомыми, наиболее активно изучаются в этом направлении. Понятие «иммунитет» в отношении моллюсков подразумевает способность последних адресно распознавать паразитических представителей таксонов разного уровня, включая конкретные виды и даже штаммы паразитов, а также активировать защитные механизмы, которые в итоге приводят к элиминации патогена.

Защитные реакции моллюсков (прежде всего, клеточные) изучаются с середины прошлого века. Накоплен большой экспериментальный материал о характере протекания трематодной инвазии для разных моделей (см. ниже). К сожалению, многие прекрасно спланированные и проведенные исследования иллюстрируют ход иммунных реакций, но не раскрывают механизмов их реализации. Поэтому большинство сделанных выводов носят предположительный характер. И только в последние годы исследования иммунного ответа моллюсков вышли на новый теоретический и методический уровни. Так, благодаря внедрению новых подходов стали возможны исследования паразито-хозяйственных отношений на молекулярном уровне – генотипической



Рисунок 1. Компоненты иммунитета пульмонат.
Figure 1. Components of immunity of pulmonate molluscs.

совместимости улиток и трематод и межмолекулярных взаимодействий компонентов системы иммунитета и паразита в ходе трематодной инвазии.

Аналізу старых работ, многие из которых стали классическими, мы посвятили предыдущие статьи (Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев и др., 2005а, б). Здесь же мы постарались обобщить, прежде всего, результаты современных исследований иммунных реакций легочных моллюсков.

За время своего существования моллюски приобрели очень широкий круг симбионтов, включающий как простых комменсалов, так и облигатных и узкоспецифичных паразитов, относящихся к самым разным систематическим группам – от протистов до целомических червей. Однако развитие иммунитета легочных моллюсков и в целом гастропод прежде всего связано с эволюционно сложившимися паразито-хозяйинными системами «трематоды–моллюски» (Cribb et al., 2001; Атаев, Полевщиков, 2004; Lockyer et al., 2004; Adema, Loker, 2015), в которых брюхоногие моллюски выступают в качестве первых, а иногда и вторых промежуточных хозяев (в случае развития в них метацеркарий). Мирацидии избирательно заражают улиток, превращаются в них в материнскую спороцисту, в результате развития и размножения которой формируются дочерние поколения партенит (редии/спороцисты), способные отрождать следующие генерации партенит и (или) личинок марит – церкарий.

Формирование инфрапопуляций партенит в моллюске может подчиняться различной стратегии паразитизма, однако во всех случаях подразумевает переключение ресурсов хозяина на ее поддержание и развитие. В результате происходят значительные

изменения в физиологии хозяина. Одним из широко известных воздействий является эффект паразитарной кастрации, проявляющийся в подавлении способности моллюска размножаться. При этом реализуются две основные стратегии внутримоллюскового развития трематод: формирование инфрапопуляции партенит лимитированного либо пролонгированного типов (Атаев, 2017). В зависимости от этого зараженные улитки эмитируют церкарий от нескольких дней до нескольких месяцев и даже лет. И все это время партениты находятся в тесном контакте с тканями моллюска-хозяина и их иммунной системой. В результате длительной коэволюции между трематодами и моллюсками сложились тесные взаимодействия, отражающие уровень противоречивых потребностей паразита и хозяина (Lockyer et al., 2004).

При долгом соседстве высокопатогенной линии паразитов с определенной группой хозяев можно ожидать, что иммунитет моллюсков станет более специфичным в отношении распознавания и элиминации определенного вида (штамма) трематод, по сравнению с другими гельминтами, не представляющими для них опасности.

Результаты изучения специфичности паразито-хозяинных систем «трематоды–моллюски» показали, что повторное заражение может вызывать два основных варианта иммунного ответа моллюска. С одной стороны, имеется большое количество работ, в которых отмечается повышение резистентности улиток на повторное заражение любым видом трематод (Lie, Heyneman, 1975; Lie et al., 1982, 1983; Sullivan et al., 1982; Sire et al., 1998). Это явление получило название «**личиночного антагонизма**» (Sullivan, Hu, 1996; Sire et al., 1998). Например, при последовательном заражении *Biomphalaria glabrata* сначала *Schistosoma mansoni*, а затем *Cotylurus lutzi* двойного заражения не возникает в том случае, если партениты шистосом развивались в моллюске 15 или более дней (Bash, 1969). Действительно, относительно небольшая экстенсивность двойной (тем более, тройной) трематодной инвазии улиток в природе отмечалась многими исследователями. Однако следует учитывать, что явление личиночного антагонизма может базироваться не только на защитных реакциях моллюска-хозяина (Sire et al., 1998), но и возникать опосредованно – вследствие взаимодействия паразитов при множественном заражении (Mouahid, Mone, 1990; Атаев, Добровольский, 1992; Combes, 1995). К сожалению, степень реализации того или иного механизма повышения резистентности моллюсков к повторной инвазии в природе практически не изучена.

С другой стороны, предварительная инвазия одним видом трематод в ряде случаев снижает последующий иммунный ответ моллюска на заражение паразитами других видов (формируется «**приобретенная чувствительность**»). Это, в свою очередь, может приводить к выживанию неспецифичного паразита. Например, заражение моллюсков *Biomphalaria glabrata* спороцистами *Echinostoma paraensei* приводит к подавлению некоторых компонентов иммунного ответа *Biomphalaria glabrata* (Adema et al., 2010; Nanington et al., 2010a), в том числе тех, которые отвечают за предотвращение развития *Schistosoma mansoni* (Lie et al., 1977; Loker et al., 1986; Bayne, Yoshino, 1989). Гемоциты улиток, зараженных эхиностомами, теряют способность оседать на поверхности чужеродных объектов и образовывать вблизи них любые агглютинации, включая капсулы (Lie, Heyneman, 1976b).

Предшествующая инвазия моллюсков *Biomphalaria orbigny* и *B. oligoza* трематодами *Zygocotyle lunata* делает моллюсков, обычно устойчивых к шистосомной инвазии, чувствительными к заражению *Schistosoma mansoni* (Spatz et al., 2012). Известно также,

что *Echinostoma paraensei* оказывает сильное влияние на структуру и функциональное состояние гемоцитов моллюска-хозяина, предотвращая формирование капсул вокруг спороцист *Schistosoma mansoni* у моллюсков резистентных штаммов (Loker et al., 1992). Возможно, явление приобретенной чувствительности проявляется в формировании новых специфичных паразито-хозяинных отношений, что на практике может способствовать увеличению числа видов моллюсков – потенциальных хозяев конкретных видов трематод. В результате происходит расширение географии этих паразитов.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Гемоциты

За выполнение иммунных реакций моллюсков на любом уровне отвечают циркулирующие клетки гемолимфы моллюсков – гемоциты (Атаев, Полевщиков, 2004; Pila et al., 2016a).

Морфологическая классификация гемоцитов пульмонат основана на исследованиях, проведенных с помощью световой и электронной микроскопии (Sminia, 1972; Harris, 1975; Sminia, Barendsen 1980; Ottaviani, 1983; Adema et al., 1992; Sasaki et al., 2003; Cavalcanti et al., 2012; Ataev et al., 2016; Pila et al., 2016a; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020 и др.), проточной цитометрии (Martins-Souza et al., 2009; Barcante et al., 2012; Ataev et al., 2016; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020), на данных по изучению функциональной активности клеток (Cheng, 1984), по разделению клеток центрифугированием в градиенте плотности (Adema et al., 1994), по связыванию антител (Yoshino, Granath, 1985) и ферментных маркеров (Sminia, Barendsen, 1980; Joky et al., 1983; Yoshino, Granath, 1983).

В разных работах описывается различное количество типов клеток гемолимфы пульмонат (Sminia, 1972; Rondelaud, Barthe, 1981; Ottaviani, Franchini, 1988; van der Knaap et al., 1993; Matricon-Condrat, Letocart, 1999; Martins-Souza et al., 2009; Cavalcanti et al., 2012; Прохорова и др., 2018 и др.). Ситуация осложняется множеством терминов, используемых для обозначения последних: лейкоциты, лимфоциты, фагоциты, макрофаги, гранулоциты, амебоциты и др. (Cheng, 1975; Jeong, Heuneman, 1976; Cheng, Guida, 1980; Sminia, Barendsen, 1980; Stumpf, Gilbertson, 1980; Sminia, 1981; Barracco et al., 1993; Adamowicz, Bolaczek, 2003). Это разнообразие может быть связано с использованием при их описании различных признаков: морфологических, ультраструктурных особенностей, биохимических маркеров (Pila et al., 2016a).

Тем не менее, большинство исследователей выделяют у пульмонат два основных типа гемоцитов – гранулоциты и гиалиноциты (рис. 2) (Cheng, 1975, 1984; Ottaviani, 2006; Yoshino et al., 2013; Ataev et al., 2016; Pila et al., 2016a, 2017; Prokhorova et al., 2018; Tokmakova et al., 2020). Эти клетки различаются по ряду признаков: размеру, способности образовывать псевдоподии, фагоцитарной активности, количественному соотношению в кровотоке, а также набором и строением органелл (Barbosa et al., 2006; Souza, Andrade, 2006).

Гемоциты участвуют в различных физиологических процессах в организме моллюска, включая иммунные реакции. В частности, они задействованы в распознавании патогенов (Gust et al., 2013), фагоцитозе (Sminia, 1972, 1981; van der Knaap, 1981; Yamaguchi et al., 1988; Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев et al., 2016; Pila et al., 2016a; 2017), инкапсуляции чужеродных объектов (Sminia et al., 1974; Harris, 1975; Lie, Heuneman, 1976b; Loker et al., 1982; Jourdane, Cheng, 1987; Ataev, Coustau, 1999;

Furuta, Yamaguchi, 2001; Прохорова и др., 2015), образовании цитотоксических молекул – метаболитов кислорода и азота, антимикробных белков (Dikkeboom et al., 1988; Adema et al., 1992, 1994; Humphries, Yoshino, 2008; Seppälä, Leicht, 2013), выработке опсонов (например, лектинов) (Horak, Deme, 1998) и цитокинов (De Jong-Brink, 1994, Gust et al., 2013). Кроме этого, гемоциты участвуют в процессах регенерации (Franchini, Ottaviani, 2000; Furuta, Yamaguchi, 2001; Hermann et al., 2005) и формировании раковины (Mount et al., 2004). Участие в таких процессах может значительно сокращать количество циркулирующих гемоцитов, однако эти потери восполняются в результате гемопоэза.

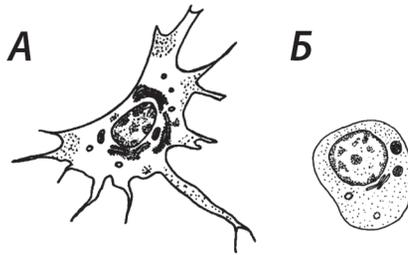


Рисунок 2. Гемоциты моллюска *Biomphalaria glabrata*. А – гранулоцит, Б – гиалиноцит.
Figure 2. Hemocytes of *Biomphalaria glabrata*. А – granulocyte, Б – hyalinocyte.

Клеточные защитные реакции

Главной функцией гемоцитов является защита внутренней среды организма хозяина от различных чужеродных факторов.

Распознавание чужеродного – центральное событие иммунного ответа, обеспечивающее запуск всего каскада как клеточных, так и гуморальных реакций, необходимых для элиминации патогена.

Распознавание в системе врожденного иммунитета связано со способностью клеток узнавать так называемые образы патогенности (или патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, pathogen-associated molecular patterns, PAMP) и образы опасности (damage-associated molecular patterns, DAMP). PAMP и DAMP содержат молекулярные мотивы, свидетельствующие о потенциальной опасности их носителя (Janeway, Medzhitov, 2002). Считается, что такая молекулярная «метка» не является высокоспецифичной и может являться признаком целой группы патогенов. Рецепторы клеток врожденного иммунитета (как мембранные, так и секретируемые), способные распознавать PAMP и DAMP, относят к паттерн-распознающим рецепторам (pattern recognition receptors, PRRs). PRRs позвоночных и беспозвоночных животных имеют различную молекулярную структуру и происхождение. Однако не только иммунокомпетентные клетки, но и клетки барьерных и соединительных тканей могут экспрессировать такие рецепторы (Akira et al., 2006; Nie et al., 2018). К PRR относят Toll-подобные рецепторы (toll-like receptors, TLR), лектины, рецепторы нуклеиновых кислот (nucleotide-oligomerizing domain receptors, NOD), антибактериальные белки, компоненты комплемента.

Благодаря развитию технологий высокопроизводительного секвенирования и протеомного анализа, в последние несколько лет доказано наличие у моллюсков основных групп PRR: TLR, липополисахарид-связывающий белок (LBP), маннан и ламинарин-

связывающие молекулы, пептидогликан-распознающие белки (peptidoglycan recognition proteins, PGRP), белок, связывающий грамотрицательные бактерии, белки гваделупского комплекса резистентности (guadeloupe resistance complex, GRC) (Dhelly et al., 2015), лектины нескольких групп (см. ниже).

Несмотря на разнообразие рецепторов, наиболее изученными являются TLR. Это самая древняя группа PRR, обладающая наиболее широким спектром распознавания чужеродного. С момента открытия у *Drosophila melanogaster* (Anderson et al., 1985) они обнаружены у большинства позвоночных и беспозвоночных животных. Молекулярная структура TLR и сигнальные пути, обеспечивающие активацию клетки при взаимодействии патогена с TLR, очень консервативны (Takeda, Akira, 2015; Pila et al., 2016b; Adema et al., 2017; Wallet et al., 2018). Однако разные группы TLR «специализируются» на распознавании разных PAMP и DAMP (Takeda et al., 2003).

У *Biomphalaria glabrata* выявлено 56 генов, кодирующих TLR двух разных типов (V-TLR и P-TLR) (Adema et al., 2017). Сравнительный анализ транскриптомов гемоцитов показал более высокий уровень конститутивной экспрессии гена TLR (BgTLR) моллюсков *B. glabrata*, резистентных к заражению *Schistosoma mansoni* (линия BS-90), по сравнению с чувствительными (линия M) (Pila et al., 2016b). Заражение *S. mansoni* приводит к 27-кратному росту экспрессии гена в гемоцитах моллюсков резистентной линии, в то время как в гемоцитах моллюсков чувствительной линии экспрессия не изменяется. При этом нокдаун гена с помощью комплементарной РНК (siRNA) приводит к значительному (на 43 %) повышению чувствительности к заражению *S. mansoni* (Pila et al., 2016b) и снижению фагоцитарной активности гемоцитов (Pila et al., 2017).

Таким образом, наличие определенного набора генов TLR рассматривается в качестве одного из возможных механизмов, определяющих специфическую совместимость в системе «трематода-моллюск» (Pila et al., 2016b).

Следующим за распознаванием этапом иммунной реакции является **адгезия гемоцитов** на поверхности чужеродного объекта. Она является необходимым условием для реализации фагоцитоза и других форм клеточного ответа моллюсков. Сравнительный анализ транскриптомов моллюсков *Biomphalaria glabrata* резистентных и чувствительных к заражению *Echinostoma caproni* линий показал наличие нескольких групп молекул адгезии: дерматопонтин (двух типов), матрилины, интегрины и кадгерин (Bouchut et al., 2006).

Дерматопонтин является секреторными белками, выявленными у беспозвоночных разных групп. Их участие в процессах адгезии доказано для губок, членистоногих и моллюсков (Bouchut et al., 2006; Sarashina et al., 2006; Coustau et al., 2015). Уровень экспрессии генов дерматопонтин у моллюсков резистентных линий повышается при трематодной инвазии. При этом максимальный уровень экспрессии наблюдается между 48 и 72 часами после заражения, что совпадает с динамикой инкапсуляции спороцист гемоцитами (Mitta et al., 2005). У моллюсков, чувствительных линий наблюдается постепенное снижение экспрессии дерматопонтин при заражении *Echinostoma paraensei* (Hanington et al., 2010a).

Матрилины демонстрируют схожую динамику экспрессии у резистентных моллюсков, однако у чувствительных интактных моллюсков их экспрессия выше, чем у резистентных (при заражении *E. caproni*). Это послужило основанием для предположения, что чувствительные моллюски имеют более мощную систему коагуляции гемолимфы, которая может препятствовать миграции гемоцитов (Bouchut et al., 2006).

Другая группа трансмембранных белков, вовлеченных в межклеточные взаимодействия и формирование внеклеточного матрикса – кадгеринины – также сильнее экспрессируется у чувствительных моллюсков, зараженных *E. caproni*, чем у резистентных. При этом показано снижение их экспрессии у моллюсков *Biomphalaria glabrata*, повторно зараженных *Schistosoma mansoni* (Pinaud et al., 2019).

Различная способность циркулирующих клеток к адгезии и фагоцитозу может быть обусловлена разным набором молекул адгезии у разных типов гемоцитов (Hermann et al., 2008). Эта особенность сказывается на участии последних в клеточных защитных реакциях.

На начальных этапах инвазии у моллюсков развивается неспецифическая **первичная клеточная реакция**. Она осуществляется за счет гемоцитов, устремляющихся из близлежащих тканей и циркуляции в очаг воспаления, где они способны к дальнейшей агрегации, агглютинации, инкапсуляции и фагоцитозу проникших патогенов (Cheng, Jourdan, 1987; Атаев, Полевщиков, 2004; Токмакова, 2018).

Неспецифичность этой реакции выражена в сходном протекании в ответ на внедрение чужеродного фактора любой природы (алло- и ксенотрансплантаты, паразиты) (Jourdan, Cheng, 1987; Атаев, Coustau, 1999; Прохорова и др., 2015). Во всех случаях вокруг патогена образуется скопление расплывающихся гемоцитов, пытающихся изолировать его от окружающих тканей. Результатом эффективной первичной реакции может стать: гибель патогена; его долговременная изоляция внутри гемоцитарной капсулы; в случае локализации патогена вблизи покровов моллюска возможно его «выдавливание» во внешнюю среду и купирование тканевых последствий проникновения (Lie, Neuneman, 1976a). Все перечисленные механизмы первичной клеточной реакции могут реализоваться при трематодной инвазии pulmonat. В зависимости от вида (линии) моллюска и вида трематод, а также их локализации в хозяине первичная реакция выражена по-разному. Во многих случаях она приводит не только к изоляции паразита, но и к его гибели.

Однако в большинстве случаев, независимо от последствий первичной реакции, наблюдается активация гемопоэза легочных моллюсков (см. ниже), обеспечивающая запуск **вторичной клеточной реакции**. Необходимость в ней обусловлена недостатком имеющихся в циркуляции гемоцитов. В случае эффективности первичной реакции задачей вновь образованных клеток является участие в ликвидации ее последствий, либо завершение инкапсуляции паразита в районе его начальной локализации в хозяине (рис. 3).

Более сложно она протекает при миграции материнской спороцисты после завершения ею метаморфоза. Если первичная клеточная защитная реакция оказалась недостаточно эффективной для изоляции и гибели спороцисты, последняя покидает район начальной локализации и перемещается в другие органы. Здесь возможно несколько основных вариантов поведения гемоцитов, мультипликация которых вызвана трематодной инвазией.

Первый, и наиболее естественный для понимания клеточных иммунных реакций вариант – отмеченное выше продолжение первичной реакции в форме **инкапсуляции** либо формирование капсулы вокруг партенит, окончательно поселившихся во внутренних органах моллюска-хозяина. Многочисленные гемоциты образуют вокруг паразита мощную капсулу. При этом между внутренней поверхностью последней и

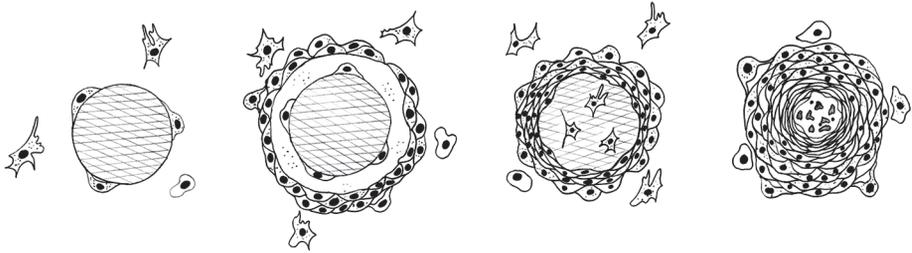


Рисунок 3. Схема инкапсуляции партенит гемоцитами моллюска. При проникновении патогена вначале происходит миграция гемоцитов из близлежащих тканей и циркуляции. В дальнейшем количество гемоцитов возрастает за счет работы гемопоэтических органов, и патоген инкапсулируется. После гибели паразита происходит разборка капсулы.

Figure 3. A scheme of encapsulation of parthenitae by molluscan hemocytes. When a pathogen enters, hemocytes first migrate from the nearby tissues and circulation. Then their number increases due to the work of hematopoietic organs, and the pathogen is encapsulated. After the death of the parasite, the capsule is disassembled.

телом паразита сохраняется узкий просвет. Возможно, именно здесь накапливаются цитотоксические вещества, выделяемые клетками гемолимфы, которые и инициируют начало процесса разрушения чужеродных объектов. Предполагается, что этими веществами могут быть активные формы кислорода и оксид азота, вырабатываемые гемоцитами (Connors, Yoshino, 1990; Connors et al., 1991; Adema et al., 2001; Атаев и др., 2005б). Внутри такой капсулы происходит гибель паразита, а затем фагоцитоз мертвых клеток спороцисты и внутренних слоев капсулы (см. Атаев, Полевщиков, 2004).

После ликвидации очага воспаления наблюдается разборка внешних слоев капсулы. При этом строение гемопоэтических структур и количественные характеристики клеточного состава гемолимфы возвращаются в исходное состояние. Аналогичные проявления клеточного иммунитета в формировании капсул вокруг чужеродных факторов описаны как для беспозвоночных, так и для позвоночных животных (Галактионов, 2005). Более того, описанная двухэтапность клеточной защитной реакции pulmonat аналогична воспалительной реакции млекопитающих, у которых патоген вначале также вызывает воспалительный процесс, а позднее в реакцию вовлекаются форменные элементы, образованные в результате активации гемопоэтических структур.

Как уже упоминалось, гемоциты моллюсков, чувствительных и резистентных к трематодной инвазии линий *B. glabrata*, отличаются по способности к участию в инкапсуляции проникающего во внутреннюю среду паразита (Lie, Heuneman, 1976). Инкапсуляция подразумевает тесный контакт гемоцитов между собой и с поверхностью паразита. Такое взаимодействие предполагает участие в иммунном ответе молекул адгезии. При этом различия между улитками чувствительной и резистентной линий могут быть связаны с разным репертуаром молекул адгезии.

Второй тип реакций заключается в образовании **агглютинаций**. В специфических паразито-хозяинных системах инкапсуляции трематод в результате вторичной реакции не происходит, несмотря на выраженную активацию гемопоэза и повышение адгезионной способности вновь формируемых гемоцитов. Последние обнаруживают партенит

и могут образовывать крупные агглютинатии в районе их локализации, иногда даже на поверхности спороцист. Однако инкапсуляции не происходит, и паразиты продолжают нормально развиваться, несмотря на такое соседство. В дальнейшем подобные агглютинатии разбираются, и внешних проявлений клеточных реакций на трематодную инвазию не наблюдается, хотя в гемолимфе зараженного моллюска отмечается повышенное количество гемоцитов по сравнению с интактными животными.

Третий тип – образование **гемоцитарной мантии** вокруг паразита в результате извращения защитной клеточной реакции хозяина на паразитирование партенит трематод. Последние оказываются изолированными от окружающих тканей хозяина, однако не подвергаются воздействиям иммунной системы, а скорее, наоборот, находятся под ее защитой. Изначально такое образование было описано у спороцист отряда Plagiorchiata (Schell, 1965; Добровольский, Райхель, 1973). Однако в настоящее время предлагается расширить применение термина «мантия» на все случаи гемоцитарной изоляции трематод, при которой паразит не только не погибает, но и способен завершить свое развитие. Остальные отличия характеризуют частные случаи адаптаций трематод к паразитизму и не меняют общей картины взаимоотношений, складывающихся у них с моллюском-хозяином. Мантия обычно покрывает все тело паразита. При этом у него сохраняется возможность использовать ресурсы хозяина. Однако она может и прерываться в определенных участках. Такой пример демонстрируют спороцисты рода *Leucochloridium*, вокруг зрелых отростков которых образуется сплошная мантия, но в районе центральной части столона (предположительно выполняющей репродуктивную и трофическую функции) она представлена крупноячейковой сетью из гемоцитов (Ataev et al., 2013; Токмакова, 2018).

Сочетание первичной и вторичной клеточных защитных реакций хорошо иллюстрируется динамикой иммунного ответа биомфаларий на заражение трематодами рода *Echinostoma*. Мирацидии *E. caproni* после проникновения в моллюска *Biomphalaria glabrata* в течение нескольких часов остаются вблизи от места пенетрации. Это время (период покоя) необходимо им для метаморфоза в материнскую спороцисту. Только после его завершения спороцисты мигрируют к сердцу хозяина, где происходит их дальнейшее развитие (Ataev et al., 1997).

В улитках резистентной линии партениты могут быть инкапсулированы уже в начале заражения (в результате первичной клеточной реакции) – до начала миграции (Ataev, Coustau, 1999). Тем не менее, большинство спороцист покидают район начальной локализации и устремляются к сердцу. Именно здесь и происходит их инкапсуляция силами вторичной гемоцитарной реакции, вероятно, с участием клеток, сформировавшихся после активации гемопоэтических структур.

Внешне похожие результаты были получены при изучении заражения *B. glabrata* мирацидиями *Echinostoma lindoense* (Lie, Heuneman, 1975). При инвазии лишь небольшой процент моллюсков проявил резистентность. В остальных улитках спороцисты мигрировали в сердце, но затем инкапсулировались и разрушались в течение 2–5 дней. Более того, при повторной инвазии элиминация партенит происходила намного быстрее. Они даже не успевали достигнуть сердца и подвергались инкапсуляции в месте пенетрации. Авторы пришли к выводу, что повышение устойчивости связано с увеличением количества гемоцитов, образуемых в результате активации гемопоэтических органов моллюсков-хозяев. Они описали это явление как пример личиночного

антагонизма (см. выше). Вероятно, материнские спороцисты способны преодолеть первичную клеточную реакцию, но через несколько дней после завершения миграции инкапсулируются в результате развития вторичной реакции. При повторном заражении партениты уже в начале развития (период покоя) сталкиваются с защитной реакцией предварительно иммунизированного моллюска. Позднее сходные данные были получены для биомфаларий, зараженных трематодами *E. caproni* (Атаев, Coustau, 1999).

Таким образом, в процессе эволюции клеточного иммунитета моллюсков защитный барьер, представленный на начальном этапе фагоцитозом бактерий и прочих корпускулярных патогенов циркулирующими клетками, дополнился сложным комплексом последовательных клеточных реакций, направленных на изоляцию и уничтожение чужеродного. Это приобретение в полной мере реализуется и в отношении партенит трематод. Вероятно, фагоцитарная активность как самодостаточная клеточная реакция реализуется только в отношении микропатогенов. Однако в случае трематодной инвазии фагоцитоз может сопровождать каждый этап реализации защитной реакции, но особенно его проявление заметно на заключительных этапах – при ликвидации тканей паразита и клеточного дебриса, представленного, в том числе, остатками гемогонитарных капсул.

Гемопозз

Несмотря на интенсивные исследования морфологии и функциональной активности гемоцитов, до сих пор отсутствует общепринятая гипотеза о природе и механизме гемопозза легочных моллюсков. Многие авторы признают наличие единого центра гемопозза – амебоцито-продуцирующего органа (АПО), который расположен между перикардиальным и мантийным эпителиями (Pan, 1958; Lie et al., 1975; Jeong et al., 1983; Joky et al., 1983; Sullivan, 1988; Атаев, Прохорова, 2013). В то же время другие исследователи настаивают на полицентричности происхождения гемоцитов, допуская, что они могут образовываться из клеток соединительной ткани моллюсков (Souza, Andrade, 2006). Существует и третья гипотеза, допускающая пролиферацию циркулирующих клеток гемолимфы улиток (Sminia et al., 1983; Monteil, Matricon-Gondran, 1991; Portet et al., 2019).

Наиболее детально АПО изучен для *Biomphalaria glabrata*, у которых он располагается между передней стенкой перикарда и мантийным эпителием (Lie et al., 1975; Pan, 1965; Jeong et al., 1983; Joky, Matricon-Condran, 1985; Sullivan, 1988; Атаев, Прохорова, 2013 и др.) и состоит из небольших скоплений клеток – «узлов» (рис. 4). Для клеток, входящих в их состав, характерны удлиненная форма, базофильная цитоплазма и ядра овальной формы. Кроме того, на базальной мембране перикардиального эпителия некоторые авторы отмечают наличие небольших митотически активных клеток, которые, согласно гистохимическим и ультраструктурным исследованиям, являются предшественниками гемоцитов (Lie et al., 1975; Jeong et al., 1983; Sullivan, 1988; Горышина, Чага, 1990; Токмакова, 2018).

Орган, гомологичный АПО и ответственный за образование амебоцитов, был обнаружен и у ряда других pulmonat: *Lymnaea truncatula* и *L. palustris* (Rondelaud, Barthe, 1981), *L. stagnalis*, (Sminia, 1974), *Biomphalaria tenagophila* (Oliveira et al., 2010), *B. obstructa*, *Helisoma trivolvis*, *Physa virgata* (Sullivan, 1988), *Planorbarius corneus* (Ottaviani, 2006); *Bulinus africanus*, *B. truncatus* и *B. tropicus* (Kinoti, 1971), *Succinea putris* (Токмакова, 2018).

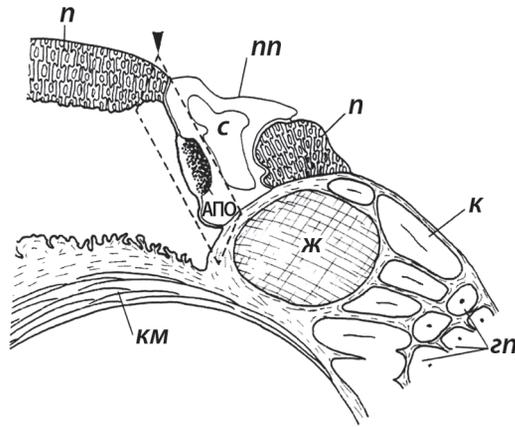


Рисунок 4. Локализация амебоцито-продуцирующего органа *Biomphalaria glabrata*.

АПО – амебоцито-продуцирующий орган, *zn* – гепатопанкреас, *ж* – желудок, *к* – кишка, *км* – колумеллярная мышца, *mn* – мантийная полость, *n* – почка, *nn* – перикардальная полость, *с* – сердце. (По: Joky, 1982 с изменениями).

Figure 4. Localization of amoebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata*.

АПО – amoebocyte-producing organ, *zn* – hepatopancreas, *ж* – stomach, *к* – intestine, *км* – columellar muscle, *mn* – mantle cavity, *n* – kidney, *nn* – pericardial cavity, *с* – heart.

При заражении моллюсков мирацидиями трематод в АПО происходят структурные изменения: в «узелках» обнаруживаются многочисленные митозы, в результате чего увеличивается общее количество клеток, входящих в состав АПО. В дальнейшем узелки сливаются, образуя единый клеточный тяж (гипертрофия и гиперплазия АПО) (Lie et al., 1976; Jeong et al., 1983; Joky, 1985; Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев, Прохорова, 2013; Токмакова, 2018). В дальнейшем прогемоциты дифференцируются в гемоциты и покидают АПО, проникая в синусы кровеносной системы. Обычно максимальная активация АПО и образование клеточного тяжа отмечается на третьи сутки после заражения. Это, в свою очередь, вызывает повышение количества гемоцитов в гемолимфе. В дальнейшем активность органа снижается и примерно на седьмой день АПО возвращается к обычному состоянию.

Однако не только трематоды вызывают активизацию гемопоэтических органов моллюсков. Иммунизация различными чужеродными веществами, включая экскреторно-секреторные продукты трематод, трансплантаты, липополисахариды (ЛПС) *E. coli* или фукоидан, также стимулирует пролиферацию клеток в АПО (Noda, 1992; Sullivan et al., 2004; Salamat, Sullivan, 2009; Sullivan et al., 2011, 2014; Zhang et al., 2016). В то же время такие вещества, как изотонический солевой раствор, суспензия живых грамположительных или грамотрицательных бактерий, некоторые лектины, зимозан, бычий сывороточный альбумин, не оказывают заметного влияния на АПО (Sullivan et al., 2004).

Для доказательства гемопоэтической роли АПО были проведены исследования по трансплантации этого органа. Так, после пересадки гетеротопических аллотрансплантатов передней стенки перикарда у моллюсков *Biomphalaria glabrata* было показано наличие кроветворной деятельности пересаженных участков АПО. В результате гистологического исследования было установлено, что все трансплантаты оказались

жизнеспособными, и признаков их отторжения не наблюдалось (Sullivan, 1990; Sullivan et al., 1998). При трансплантации АПО от моллюсков, резистентных по отношению к *Schistosoma mansoni*, моллюскам чувствительной линии, последним передается устойчивость к трематодной инвазии, что сопровождается повышением способности к инкапсуляции спорозист паразита (Sullivan, Spence, 1999; Vasquez, Sullivan, 2001; Barbosa et al., 2006). Однако приобретенная резистентность может быть обусловлена различными растворимыми факторами, перенесенными трансплантированными клетками, или путем секреции молекул, которые, в свою очередь, стимулируют реципиента к продуцированию собственных факторов устойчивости. Данные молекулы может синтезировать как сам трансплантат, так и гемоциты (Vasquez, Sullivan, 2001).

На сегодняшний день остаются нерешенными вопросы о природе и источнике факторов, вызывающих активацию АПО, пролиферацию предшественников гемоцитов и запуск защитных реакций моллюсков после проникновения патогена. Возможно, эндогенные факторы, индуцирующие клеточную пролиферацию и дифференцировку, вырабатываются циркулирующими гемоцитами и (или) клетками в составе АПО (Sullivan et al., 2004; Pila et al., 2016a; Zhang et al., 2016).

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Эволюционно гуморальные реакции являются вторичными по отношению к клеточным, так как их появление подразумевает наличие сформированной внутренней среды организма. Становление гуморальных реакций, как правило, предусматривает наличие циркуляторных систем и связанных с ними клеточных элементов, вовлеченных в защитные реакции, а также существование кооперативных взаимодействий между циркулирующими клетками и клетками других органов (см. Атаев и др., 2005а).

Гуморальные компоненты гемолимфы, многие из которых могут функционировать как в составе рецепторных комплексов, так и в виде секретируемых в плазму молекул, обеспечивают распознавание чужеродного, активацию гемоцитов, опсонизацию патогенов (повышающую эффективность фагоцитоза), антибактериальный эффект, регуляцию иммунных реакций, обладают агглютинирующей и литической активностями (Jourdan, Cheng, 1987; van der Knaap, Loker, 1990; Sullivan, Spence, 1999; Connors, 2003).

Например, дочерние спорозисты *Schistosoma mansoni* агглютинируются только в плазме резистентных моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Bayne, Yoshino, 1989). Факторы гемолимфы резистентных особей, находящиеся в плазме, вызывают приводящую к гибели спорозист их инкапсуляцию гемоцитами моллюсков чувствительных линий (Granath et al., 1984; Connors, Yoshino, 1990; van der Knaap, Loker, 1990). Имеются данные, полученные *in vivo*, согласно которым роль гуморальных факторов в процессе гибели партенит трематод является основной. Так, дегенерация материнских спорозист *Echinostoma lindoense* в моллюсках *Biomphalaria glabrata* вообще может протекать без предварительной инкапсуляции (Lie, Heyneman, 1976b).

В последние годы все больше подтверждается значимость гуморальных факторов в формировании специфичности иммунитета pulmonat. Именно гуморальным факторам приписывается основная роль в формировании так называемого иммунного праймирования и тренированного иммунитета («индуцированной резистентности»), которые рассматриваются в качестве доказательства наличия иммунологической памяти у беспозвоночных (Coustau et al., 2016; Netea et al., 2016; Gourbal et al., 2018; Melillo et al., 2018).

Участие гуморальных факторов в распознавании чужеродного

Ранее отмечалось, что в процессе распознавания чужеродных объектов принимают участие лектины. К ним относятся белки или гликопротеины, обладающие сайтами олигосахаридного связывания и способные агглютинировать или преципитировать гликоконъюгаты, локализованные на клеточных поверхностях. В гемолимфе моллюсков выявлен целый спектр углевод-связывающих (лектиновых) веществ (Купер, 1980; Glinski, Jarosz, 1997; Vasta et al., 2015).

Установлено, что лектины *Biomphalaria glabrata* являются агглютинидами в отношении спороцист *Schistosoma mansoni* и, более того, оказывают на них цитотоксическое воздействие (Bayne et al., 1985). Заражение моллюсков трематодами *Echinostoma paraensei* приводит к сильному повышению концентрации лектинов в плазме гемолимфы (Adema et al., 1997a).

Среди многообразия лектинов наиболее значимыми в иммунном ответе считаются Ca^{2+} -зависимые лектины С-типа, обладающие высоким уровнем полиморфизма (Pees et al., 2016). С-лектины (C-type lectin-related proteins, CREPs) экспрессируются в гемоцитах, в белковой железе и гепатопанкреасе pulmonat (Guillou et al., 2007; Ataev et al., 2016) и чаще всего играют роль растворимых рецепторов и опсоинов (Renwrtantz, 1986; Adema, Loker, 2015).

Избирательность связывания лектинов с чужеродным установлена при изучении патогенсвязывающей способности белков плазмы *Biomphalaria glabrata*. Показано наличие в ней трех групп свободных лектинов С-типа. При этом они преимущественно связывались с поверхностью бактерий (*Micrococcus luteus*, *E. coli*) и клеток дрожжей, но не осаждались на поверхности мирацидиев трематод *Echinostoma caproni* и *Schistosoma mansoni* (Tetreau et al., 2017). Другие лектины, например, фибриногенподобные белки (см. ниже), связываются с поверхностью спороцист трематод *S. mansoni* (Hokke et al., 2007; Peterson et al., 2009). Кроме этого, именно под лектины мимикрируют поверхностные гликаны трематод, обеспечивающих себе таким образом молекулярную мимикрию.

Другая группа лектинов pulmonat – галектины (galectin-related proteins, GREPs) – активно экспрессируются у моллюсков *Biomphalaria glabrata* резистентной и чувствительной линий, зараженных *Schistosoma mansoni* и *Echinostoma paraensei* (Hanington et al., 2010a; Adema et al., 2010). Считается, что основная функция галектинов заключается в усилении адгезии гемоцитов на поверхности спороцист трематод (Yoshino et al., 2008).

Лектины, подобные компоненту комплемента C1q, активнее транскрибируются у зараженных трематодами *Echinostoma paraensei* и *Schistosoma mansoni* биомфаларий чувствительных линий (Adema et al., 2010). C1q-подобные лектины могут взаимодействовать с фукозными остатками поверхности тегумента спороцист и усиливать адгезию на них гемоцитов (Castillo et al., 2007).

Особую группу лектинов составляют фибриногенподобные белки (fibrinogen-related proteins, FREPs). Они были отнесены к лектинам по способности связывать углеводные эпитопы. Однако их молекулярная структура настолько уникальна, что их можно рассматривать как отдельную группу PRR (Adema et al., 1997).

FREP имеют уникальную доменную организацию. На N-конце полипептида находится один или два варибельных иммуноглобулиноподобных домена (immunoglobulin-

superfamily like domain, IGSF), а на С-конце – фибриногеновый домен (fibrinogen-like domain, FBG) (Doolittle, 1992; Kurosava, Hashimoto, 1996; Adema et al., 1997) (рис. 5А).

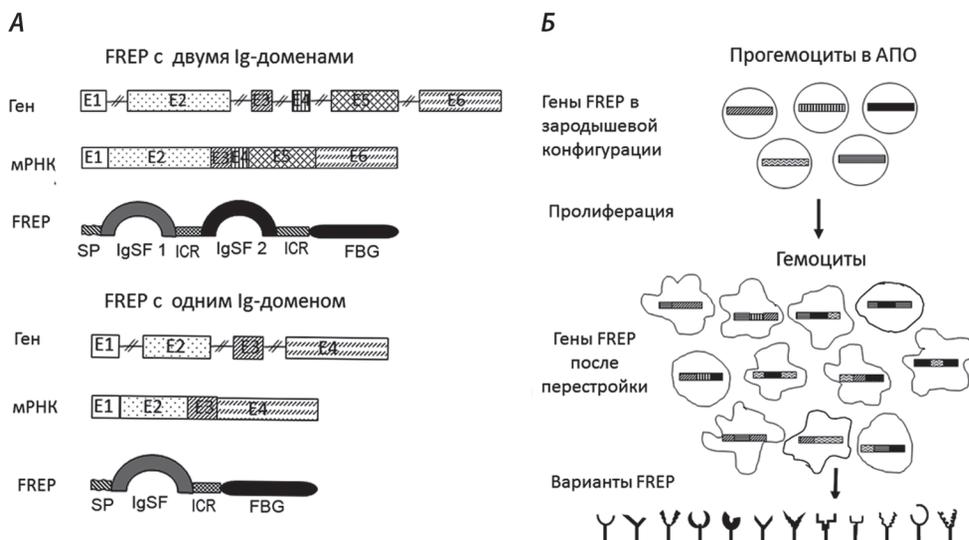


Рисунок 5. Фибриногенподобные белки (FREP). *А* – организация геномных локусов и доменная структура фибриногенподобных белков. E1–E6 – экзоны, SP – сигнальный белок, IgSF – домен иммуноглобулинового суперсемейства, FBG – фибриногеновый домен, ICR – промежуточный участок. *Б* – схема формирования разнообразия FREP в онтогенезе моллюска (пояснения в тексте).

Figure 5. Fibrinogen-like proteins (FREP). *A* – organization of genomic loci and domain structure of fibrinogen-like proteins. E1 – E6 – exons, SP – signaling protein, IgSF – domain of the immunoglobulin superfamily, FBG – fibrinogen domain, ICR – intermediate region. *B* – scheme of the formation of the FREP diversity in the ontogeny of the mollusc (see text for explanations).

Фибриногеновый домен – наиболее консервативная часть молекул FREP. Гомология фибриногеновых доменов, относящихся к разным группам FREP, составляет не менее 72 % (Dheilly et al., 2015). Принято считать, что фибриногеновый домен не участвует в реакциях коагуляции гемолимфы, а основная его функция – облегчение кальций-зависимого связывания лектинов с углеводами (Adema et al., 1999). Одним из примеров фибриногенподобных белков, имеющих сайт связывания с ионами кальция, является селектин, вовлеченный в процессы адгезии у моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Guillou et al., 2004).

Для иммуноглобулиновых доменов FREP характерна крайняя вариабельность, которая была выявлена с помощью транскриптомного анализа (Dheilly et al., 2015). В настоящее время на основании изучения структуры иммуноглобулинового домена выделено как минимум 14 подсемейств FREPs моллюска *B. glabrata* (Loker et al., 2004; Gordy et al., 2015; Galinier et al., 2017). У отдельных особей этого вида выявляется от 36 до 45 различных вариантов мРНК FREP3 (Zhang et al., 2004), которые соответствуют 31 и 36 вариантам аминокислотных последовательностей. Репертуар FREP также меняется по мере роста моллюска и после заражения трематодами разных видов (Hanington et al., 2010a, b, 2012; Gordy et al., 2015).

По разным оценкам фибриногенподобные белки биомфаларии кодируются в 1–9 геномных локусах (Gordy et al., 2015). Однако разнообразие FREP не ограничивается только генотипически определенным ресурсом. В частности, для нескольких FREP3 доказана индивидуальная вариабельность, источником которой может быть не только аллельный полиморфизм, но и соматическая диверсификация генов (Zhang et al., 2004; Hanington et al., 2010b). В качестве источников разнообразия рассматривают точечные мутации (Zhang et al., 2004, 2008; Mone et al., 2010; Dheilly et al., 2015) и альтернативный сплайсинг (Zhang, Loker, 2004).

Получены данные, свидетельствующие о существовании механизма соматического мутагенеза в генах, кодирующих FREP. Гены FREP кластеризованы: 4 гена FREP (FREP14 и три члена семейства FREP3) находятся в пределах геномной области 70 000 пн. Именно такая конфигурация генов часто ассоциируется с соматическим мутагенезом в этих участках (Chen et al., 2007; Hanington et al., 2010b). Кроме того, у *B. glabrata* выявлены нуклеотидные последовательности, кодирующие цитидиновую дезаминазу (один из основных ферментов, обеспечивающих процесс соматического гипермутагенеза), экспрессия которого повышается у моллюсков, зараженных трематодами (Bouchut et al., 2006).

Возможность соматического гипермутагенеза заложена и в механизме гемопоэза pulmonat. В основном FREP экспрессируются в гемоцитах моллюсков (Adema et al., 1997; Hanington et al., 2010a, b). Предполагается, что случайные соматические мутации могут возникать во время пролиферации и клеточной дифференцировки в гемопоэтических структурах, что изменяет зародышевое состояние генов в некоторых гемоцитах. В результате часть гемоцитов содержат гены FREP не в зародышевой конфигурации, а включают уникальные мутации (Hanington et al., 2010a, b). Так как в онтогенезе улитки происходит обновление пула гемоцитов, то и репертуар FREP, экспрессируемых в этих клетках, также меняется (рис. 5Б). Эта закономерность показана экспериментально: транскрипты пулов из 20–40 гемоцитов *B. glabrata* содержат различные наборы модифицированных последовательностей FREP (Hanington et al., 2010a, b). Стимуляция патогеном может усиливать гемопоэз у *B. glabrata*, в результате чего усиливается процесс мутагенеза и разнообразие FREP (Hanington et al., 2012; Adema, Loker 2015). Соответственно, у моллюсков репертуар патоген-распознающих молекул не ограничивается только генотипически определенным ресурсом. При этом ранее онтогенетическая изменчивость патогенраспознающих молекул считалась прерогативой только позвоночных животных (Medzhitov, Janeway, 1997).

Структура кодирующих геномных локусов, соматическая диверсификация и признаки наличия гипермутагенеза, а также способность специфично распознавать патогены позволяют рассматривать FREP в качестве функциональных аналогов иммуноглобулинов позвоночных (Adema et al., 1997; Connors, 2003). Поэтому изучение разнообразия FREP является одним из основных направлений раскрытия механизмов возможной специфичности иммунитета pulmonat.

Впервые иммунологическая роль FREP была показана для моллюсков *B. glabrata* М-линии, у которых экспрессия генов FREP повышалась в три раза после заражения *Echinostoma paraensei* (Adema et al., 1997). В настоящее время установлено, что FREP – одна из самых обильно представленных фракций белков плазмы *Biomphalaria glabrata* (Wu et al., 2017). Было многократно подтверждено изменение экспрессии

генов FREP при заражении моллюсков трематодами (Hertel et al., 2005; Mitta et al., 2005; Hanington et al., 2010a, b).

У моллюсков резистентной и чувствительной линий выявлены конституционные различия в экспрессии фибриногенподобных белков (Mitta et al., 2005). Так, при заражении *B. glabrata* мирацидиями *Echinostoma paraensei* значительно усиливается транскрипция фибриногенподобных белков двух подсемейств (FREP2 и FREP4) у особей как резистентной, так и чувствительной линий.

В опытах с нокдауном генов FREP показано повышение восприимчивости *Biomphalaria glabrata* резистентных линий к заражению трематодами *Echinostoma paraensei* и *Schistosoma mansoni*. Это подтверждает, что FREP является одним из факторов, определяющих устойчивость моллюсков к заражению трематодами, а также указывает на роль FREP в формировании памяти (Jiang et al., 2006; Hanington et al., 2010a, 2012).

Кроме того, разные FREP обладают избирательной активностью в отношении патогенов: FREP2 плазмы зараженных моллюсков связывается преимущественно со спороцистами *Echinostoma paraensei*, а FREP3 – с бактериями и грибами (Zhang et al., 2008). Показана четкая зависимость между зараженностью моллюсков и уровнем экспрессии фибриногенподобных белков разных подсемейств (Guillou et al., 2004; Hertel et al., 2005; Jiang et al., 2006). Также имеются данные о специфичности экспрессии FREP при заражении трематодами разных видов. Так, у моллюсков *Planorbarius corneus* уровень экспрессии генов FREP различен у незараженных и зараженных разными видами трематод особей. При заражении улиток партенитами *Notocotylus* sp. и *Plagiorchis* sp. экспрессия FREP понижается, а у особей, зараженных *Cotylurus* sp. и *Bilharziella polonica*, экспрессия FREP выше, чем у незараженных (Прохорова и др., 2010).

ЭФФЕКТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ИММУНИТЕТА

После проникновения паразита в моллюска и его распознавания включаются эффекторные механизмы подавления инвазии. В реализации иммунных реакций моллюсков участвуют такие группы факторов, как протеазы, ингибиторы протеаз, компоненты комплемента, антибактериальные белки, токсины, активные кислородные метаболиты и др.

Протеазы участвуют в уничтожении патогенов, ферментативных каскадах, моделировании клеточного матрикса и передвижении иммунокомпетентных клеток в ткани. У пульмонат обнаружены как многочисленные протеазы (серпины, катепсин, эластаза, цинк-зависимая металлопротеаза, цистатины), так и их ингибиторы (ингибиторы сериновых и цистатиновых протеаз) (Cheng et al., 1978; Cheng, Dougherty, 1989). Заражение трематодами приводит к усилению экспрессии этих молекул у *Biomphalaria glabrata* (Mitta et al., 2005; Lockyer et al., 2012). В частности, показано усиление экспрессии цистатина в гемоцитах в составе капсул вокруг спороцист *Echinostoma caproni* (Guillou et al., 2007) и повышение выработки катепсина В, эластазы и цинковой металлопротеазы в гепатопанкреасе зараженных биомфаларий (Myers et al., 2008; Ittiprasert et al., 2010; Lockyer et al., 2012).

Кроме того, цистеиновые протеазы вырабатываются мирацидиями и молодыми материнскими спороцистами (Yoshino et al., 1993; Fryer et al., 1996). В частности, секреторный белок SmVAL (venom allergen-like protein) *Schistosoma mansoni* влияет на экспрессию белков внеклеточного матрикса гемоцитами *Biomphalaria glabrata* (Yoshino et al., 2014).

Другая группа эффекторных белков, обладающих выраженным антипатогенным свойством – антибактериальные белки. Они участвуют в элиминации фагоцитированных патогенов, а также в процессах внеклеточной цитотоксичности.

У pulmonat описано несколько антимикробных пептидов. Для белка митамацина (mytimacin, или lipopolysaccharide-binding protein/bactericidal permeability increasing, LBP/BPI), вырабатываемого клетками белой железы, показана антибактериальная и противогрибковая активность (Guillou et al., 2007; Baron et al., 2016; Adema et al., 2017), а также повышение экспрессии при заражении моллюсков партенитами эхиностом (Guillou et al., 2007; Hanington et al., 2010a). Другой антимикробный белок – MPEG1 (macrophage expressed gene-1), относящийся к суперсемейству перфоринов, вырабатывается гемоцитами резистентных биомфаларий, зараженных трематодами *Schistosoma mansoni* (Ittiprasert et al., 2010).

Несколько лет назад был открыт белок биомфализин (biomphalysin), который в настоящее время рассматривается в качестве одного из определяющих факторов резистентности у моллюсков (Galinier et al., 2013; Li et al., 2020). Биомфализин – аэролизинподобный белок, формирующий поры токсин, секретируемый в плазму. Предположительно биомфализин достался моллюскам от бактерий в результате горизонтального переноса генов (Galinier et al., 2013). Белок включает два домена – домен, подобный формирующему β -поры токсину (β -pore-forming toxins), способный встраиваться и перфорировать клеточные мембраны, и малый домен, вовлеченный в распознавание углеводных РAMP. Биомфализины способны связываться с поверхностью спороцист *S. mansoni*. При этом белки плазмы гемолимфы значительно усиливают их активность (Galinier et al., 2013). *In vitro* показана его способность к взаимодействию как с бактериями и дрожжами, так и с трематодами *S. mansoni* и *Echinostoma caproni* (Tetreau et al., 2017). Показана способность биомфализинов формировать комплексы с FREP и тиоэфир-содержащим белком (Li et al., 2020).

Конститутивно в гемоцитах биомфализины экспрессируются в небольшом количестве (Galinier et al., 2013). У особей, зараженных *S. mansoni* формируются многочисленные варианты транскриптов биомфализина (Pinaud et al., 2019). Выработка того или иного варианта зависит от природы (особенностей) паразита. При этом часть транскриптов перестает вырабатываться, выполнив свою задачу, а часть продолжает экспрессироваться. Поэтому биомфализин рассматривают в качестве одного из компонентов так называемой гуморальной иммунной памяти (Portela et al., 2013; Pinaud et al., 2016).

Недавно в геноме *Biomphalaria glabrata* было выявлено пять генов, кодирующих порообразующие белки, отличающиеся от биомфализина. Новое семейство токсинов было названо глабрализинами (glabralysins). Для одних глабрализинов показано повышение экспрессии при заражении трематодами *Schistosoma mansoni*, для других – при иммунизации бактериями (Lassalle et al., 2020).

Путем *in silico* анализа в транскриптоме биомфаларий также выявлены мРНК, схожие с теромацином (theromacin), ахацином (achacin) из моллюсков *Achatina fulica*, аплизанином (aplysianin) из *Aplysia kurodai* и несколько биомфамицинов (biomphamacins) – богатых цистином катионных пептидов. Для всех факторов показано повышение экспрессии в ответ на иммунизацию бактериями (Mitta et al., 2005; Adema et al., 2017).

Одной из основных составляющих гуморального иммунитета является система комплемента. Однако для большинства беспозвоночных в настоящее время описаны лишь отдельные ее компоненты (Кокряков, 2006). Анализ транскриптомов и протеомов

гемоцитов биомфаларий показал наличие C1q-подобного белка и тиозфир-содержащего белка (thioester-containing protein, TEP) (Pinaud et al., 2019). TEP – комплементоподобные молекулы, которые исполняют роль опсонин, стимулируя фагоцитоз или лизис клеток. Для моллюсков доказана роль TEP в фагоцитозе микроорганизмов и антипаразитарном ответе (Blandin, Levashina, 2004). TEP участвуют в формировании капсул вокруг спорозист трематод у *Biomphalaria glabrata* при первичной иммунизации (Mone et al., 2010; Mitta et al., 2012; Portet et al., 2018). При повторном заражении, сопровождающемся сдвигом в сторону гуморального иммунитета, происходит снижение экспрессии TEP и C1q-подобного белка (Pinaud et al., 2016, 2019).

Активные метаболиты молекулярного кислорода и азота (reactive oxygen species, ROS и reactive nitrogen species, RNS) являются важнейшими факторами иммунной защиты моллюсков. В процессе фагоцитоза они обеспечивают деструкцию клеточных мембран паразита.

Основное количество кислородных метаболитов образуется при активации медьсодержащих фенолоксидаз, проявляющих тиразидазную активность. Фенолоксидаза является купроэнзимом, который демонстрирует субстратную специфичность к моно- и дифенолам. Она является одним из основных медьсодержащих ферментов гемолимфы моллюсков, однако этот фермент также был обнаружен в других органах моллюсков (Бабич и др., 2017). Считается, что при реализации иммунного ответа (в том числе при инкапсуляции патогена) именно гемоциты секретируют фенолоксидазу. Однако на сегодняшний день, не известно являются ли они единственным ее источником. Поскольку фенолоксидаза является медьсодержащим ферментом, можно предположить существенную роль меди в реализации защитных функций гемоцитов в иммунном ответе. Механизмы поддержания гомеостаза меди в межклеточных пространствах появляются только у многоклеточных, и они мало изучены. Скорее всего, существуют значительные различия этих механизмов между животными (водные, сухопутные, с замкнутой и незамкнутой системой кровообращения, животные с разным уровнем развития органов, в биосистеме «паразит–хозяин» и др.). Отсутствие данных о внутриклеточном и межорганном обмене меди у моллюсков препятствует пониманию одной из важнейших сторон физиологии врожденного иммунитета – роли гомеостаза меди в формировании «дыхательного взрыва» и меланизации.

Исследования *in vitro* показали, что H_2O_2 и NO способствуют уничтожению спорозист *Schistosoma mansoni* гемоцитами *Biomphalaria glabrata* резистентной линии. При этом резистентные улитки генерируют больше ROS и RNS, чем чувствительные особи (Hahn et al., 2001; Mone et al., 2010). Для них показана конститутивно более интенсивная экспрессия Cu/Zn супероксиддисмутазы (CuZn SOD) (Bonner et al., 2012). При этом аллель гена SOD1 рассматривается как специфический маркер для выявления специфической резистентности у *B. glabrata* к инвазии *Schistosoma mansoni* (Coustau et al., 2015).

Производство супероксиданиона (O_2^-) установлена для гемоцитов *Lymnaea stagnalis* и *Helix aspersa* при фагоцитозе частиц зимозана. Аналогичные результаты показал анализ гемоцитов чувствительных и резистентных линий *Lymnaea stagnalis* к заражению *Trichobilharzia ocellata* (Dikkeboom et al., 1988). При инвазии *Lymnaea stagnalis* специфическим паразитом *Trichobilharzia ocellata* и неспецифическим *Schistosoma mansoni* гемоциты моллюска отвечают продукцией активных форм кислорода в ответ на неспецифического паразита, вызывают его гибель и не отвечают на специфического,

что обеспечивает выживание последнего. Материнские спороцисты обоих видов активируют внутриклеточную ксантин-оксидазную систему, что приводит к образованию высокотоксичных перекисных соединений. Применение ингибитора НАДФН-оксидазы задерживает элиминацию спороцист *Trichobilharzia ocellata* и *Schistosoma mansoni* гемоцитами резистентных к инвазии *Lymnaea stagnalis* и *Biomphalaria glabrata*, соответственно (Dikkeboom et al., 1988; Adema et al., 1994, 2001). Для *Viciparus ater* показана способность гемоцитов к синтезу NO с помощью ключевого фермента – НАДФН-зависимой нитритной окись-синтазы. Стимуляция клеток ЛПС увеличивает активность этого фермента и продукцию NO в 2.4 раза (Conte, Ottaviani, 1995).

Трематоды имеют защитные системы, препятствующие их повреждению ROS и RNS. Во время трансформации мирацидия в материнскую спороцисту вырабатывается целый ряд антиоксидантных ферментов – глутатион-S-трансфераза (GST), Cu/Zn супероксиддисмутаза (SOD), глутатион пероксидаза (GPx) и пероксиредоксины (Prx), обеспечивающие защиту развивающегося паразита (Guillou et al., 2007).

РЕГУЛЯТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА МОЛЛЮСКОВ

Основными регуляторами иммунного ответа животных являются небольшие пептиды – цитокины (см.: Атаев и др., 2005б; Mitta et al., 2005; Garcia et al., 2010). Цитокины участвуют как в регуляции иммунного ответа, так и в поддержании тканевого гомеостаза.

У легочных моллюсков выявлены такие универсальные цитокины, как фактор некроза опухолей (TNF-related protein), макрофагальный ингибирующий фактор, цистатин. Кроме того, описаны некоторые белки, вовлеченные в сигнальные каскады активации клеток – белки, содержащие цинковые пальцы (zinc-finger proteins), кальмодулин, тимозин В4 (Yoshino et al., 1993; Bayne et al., 2001).

Одним из наиболее хорошо охарактеризованных цитокинов пульмонат является фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (macrophage migration inhibitory factor, MIF) (Mitta et al., 2005). MIF экспрессируется в циркулирующих гемоцитах (преимущественно гранулоцитах) и эмбриональных клетках *Biomphalaria glabrata* (Vge cells). Показано его присутствие в плазме гемолимфы (Garcia et al., 2010). Он способен стимулировать клеточную пролиферацию и ингибировать NO-зависимый p53-опосредованный апоптоз Vge-клеток. Заражение *Schistosoma mansoni* приводит к снижению экспрессии MIF, которое коррелирует с миграцией гемоцитов к инфицированным трематодами тканям. Нокдаун гена MIF приводит к нарушению инкапсуляции спороцист *S. mansoni* в культуре Vge-клеток (Garcia et al., 2010). Консервативность гена MIF позволяет рассматривать его в качестве ортолога MIF млекопитающих.

Помимо MIF в транскриптом *Biomphalaria glabrata* обнаружены последовательности, гомологичные воспалительным факторам трансплантации млекопитающих (mammalian allograft inflammatory factors, AIF). AIF млекопитающих экспрессируются при отторжении аллотрансплантатов и участвуют в регуляции воспаления (Deininger et al., 2002). У биомфаларий резистентной линии показано пятикратное повышение экспрессии AIF (Mitta et al., 2005).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненный анализ информации об иммунном ответе пульмонат на чужеродные факторы позволяет рассматривать основные этапы его реализации как аналогичные соответствующим реакциям других животных. В частности, защитные реакции пульмонат

включают два уровня: клеточный и гуморальный. Однако не всегда просто провести четкое разграничение их функциональных компетенций. Так, гемоциты моллюсков, способные к фагоцитозу и инкапсуляции патогена, используют при этом различные факторы гуморального иммунитета для распознавания и элиминации чужеродного.

С другой стороны, в рамках рассматриваемой паразито-хозяинной системы большой интерес представляют реакции трематод на комплекс защитных барьеров моллюска. Анализ полученных результатов позволяет заключить, что выявленная иммунная устойчивость pulmonat к трематодной инвазии полностью укладываются в общие представления об адаптивных реакциях паразита на иммунный ответ хозяина. Способность партенит трематод избегать защитных реакций моллюска-хозяина указывает на длительную историю становления данной паразито-хозяинной системы.

Существует несколько основных гипотез, объясняющих механизмы избегания партенитами трематод иммунных реакций моллюсков. Основной из них является **«модель совместимого молекулярного полиморфизма»**. Для моллюска характерен определенный набор клеточных и гуморальных компонентов иммунитета, заданных генотипически. Резистентные моллюски отличаются от чувствительных по набору и уровню экспрессии распознающих молекул, факторов цитотоксичности, адгезии и др. Для паразита конкретного вида (или штамма) также характерен генотипически заданный набор антигенных детерминант (рецепторы поверхности тегумента, экскреторно-секреторные продукты, продукты метаболизма). Способность моллюска распознавать патоген, реагировать на него, а с другой стороны, способность паразита избегать этого ответа определяют совместимость конкретной паразито-хозяинной системы.

Для объяснения явления «молекулярного полиморфизма» были предложены альтернативные гипотезы. Первая заключается в том, что совместимость определяется степенью резистентности моллюска (Webster, Davies, 2001). Согласно второй, успешность заражения определяется совпадением индивидуальных молекулярных характеристик паразита и хозяина (Theron, Coustau, 2005). В то же время Митта с коллегами (Mitta et al., 2017) допускают, что эти гипотезы не являются взаимоисключающими и что совместимый статус конкретной улитки и трематоды определяется балансом между несколькими молекулярными детерминантами, относящимися к двум категориям: первая – врожденные генетические особенности паразита и хозяина, вторая – молекулы (рецепторы и антигены), обладающие полиморфизмом (например, FREP). Поэтому чувствительность и резистентность не бывают абсолютными.

Гипотеза молекулярной мимикрии подразумевает экспрессию паразитом поверхностных молекул, опознаваемых внутренними защитными системами хозяина как «свое» (Damian, 1989). Показано, что разные уровни восприимчивости хозяина коррелируют с различным содержанием поверхностных антигенов паразита (van der Кнаар, Loker, 1990).

Согласно **гипотезе молекулярной маскировки**, выживание паразита обеспечивается осаждением на его поверхности молекул гемолимфы хозяина. В основе этого явления могут лежать как пассивная сорбция молекул гемолимфы, так и их активный захват посредством специальных рецепторов на поверхности паразита (van der Кнаар, Loker, 1990). Например, трематоды *Schistosoma mansoni* экспрессируют на своей поверхности полиморфные муцины (polymorphic mucins, SmPoMucs), которые предотвращают распознавание иммунной системой моллюсков чужеродного.

Согласно четвертой гипотезе, выживаемость паразита основана на **ингибировании процессов иммунного ответа хозяина**. Это происходит с участием экскреторно-секреторных продуктов, выделяемых паразитом (Loker et al., 1992; Lodes, Yoshino, 1990). В частности, экскреторно-секреторные продукты способны изменять профиль экспрессии белков гемоцитами, что может препятствовать распознаванию патогена иммунной системой моллюска (Yoshino et al., 2013).

В завершение настоящего обзора коротко затронем явление специфичности моллюсков к трематодной инвазии. В условиях постоянного взаимодействия с чужеродными антигенами их резистентность к паразиту является скорее правилом, а восприимчивость – исключением. Поэтому успешность заражения зависит, прежде всего, от способности паразита «избегать» защитных реакций хозяина или подавлять их. Моллюск обеспечивает среду обитания, которую паразит использует для развития и увеличения собственной численности. Для этого необходим тесный контакт между паразитом и хозяином, и несомненно, это взаимодействие распространяется на молекулярный диалог между ними, результатом которого, вероятно, является запуск и сила иммунного ответа улиток.

Однако до сих пор остается много вопросов относительно формирования явления специфичности и механизмов устойчивости паразито-хозяинных систем. Является ли давление, создаваемое трематодной инвазией, фактором, способствующим развитию специфичности в иммунных системах моллюсков, и служит ли такое приобретение движущей силой для формирования разнообразия трематод?

Учитывая сложившиеся в ходе коэволюции паразито-хозяинные системы, можно предположить, что трематоды оказали серьезное влияние на формирование иммунных реакций легочных моллюсков, включая степень их специфичности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-15003 НЦНИ_а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атаев Г.Л. 2017. Размножение партенит трематод. Обзор основных теорий. СПб, Наука, 88 с.
- Атаев Г.Л., Добровольский А.А. 1992. Развитие микрогемипопуляции редий *Philophthalmus rhionica* в моллюсках, природно-зараженных другими видами трематод. Паразитология 26 (3): 227–233.
- Атаев Г.Л., Полевщиков А.В. 2004. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. 1. Клеточные реакции. Паразитология 38 (4): 342–351.
- Атаев Г.Л., Еремина Е.Е., Полевщиков А.В. 2005а. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. Гуморальные реакции. Паразитология 39 (1): 3–15.
- Атаев Г.Л., Дьячков И.С., Полевщиков А.В. 2005б. Сравнительно-иммунологический анализ защитных реакций брюхоногих моллюсков. Известия РГПУ 5 (13): 265–281.
- Атаев Г.Л., Прохорова Е.Е. 2013. Изменения в амебозито-продуцирующем органе моллюсков *Biomphalaria glabrata* при заражении трематодами *Echinostoma caproni*. Паразитология 47 (6): 472–479.
- Бабич П.С., Кудрявцева П.С., Орлов Ю.А., Атаев Г.Л. 2017. Изучение содержания меди в тканях моллюсков *Planorbarius corneus* и влияния трематодной инвазии на фенолоксидазную активность гемолимфы. Паразитология 51 (6): 490–498.
- Галактионов В.Г. 2005. Эволюционная иммунология. М., ИКЦ «Академкнига», 408 с.
- Горышина Е.Н., Чага О.Ю. 1990. Сравнительная гистология тканей внутренней среды с основами иммунологии. Л., Издательство ЛГУ, 320 с.

- Добровольский А.А., Райхель А.С. 1973. Жизненный цикл *Haplometra cylindracea* Zeder 1800 (Trematoda, Plagiorchiidae). Вестник Ленинградского университета 3: 5–13.
- Купер Э. 1980. Сравнительная иммунология. М., Мир, 422 с.
- Прохорова Е.Е., Цымбаленко Н.В., Атаев Г.Л. 2010. Экспрессия генов факторов защитных реакций у моллюсков *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при заражении трематодами. Паразитология 44 (4): 310–325.
- Прохорова Е.Е., Токмакова А.С., Атаев Г.Л. 2015. Реакция гемоцитов моллюсков *Planorbarius corneus* на ксенотрансплантат. Паразитология 49 (2): 128–132.
- Прохорова Е.Е., Серебрякова М.К., Токмакова А.С., Кудрявцев И.В., Усманова Р.Р., Атаев Г.Л. 2018. Анализ клеточного состава гемолимфы трех видов планорбид (Gastropoda: Pulmonata). Invertebrate Zoology 15 (1): 103–113.
- Кокряков В.Н. 2006. Очерки о врожденном иммунитете. СПб., Наука, 261 с.
- Токмакова А.С. 2018. Клеточные реакции легочных моллюсков на трематодную инвазию. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб, 22 с.
- Adamowicz A., Bolaczek M. 2003. Blood cells morphology of the snail helix *Aspersa maxima* (Helicidae). Zoologica Poloniae 48 (1–4): 93–101.
- Adema C.M., Harris R.A., van Deutekom-Mulder E.C. 1992. A comparative study of hemocytes from six different snails: morphology and functional aspects. Journal of Invertebrate Pathology 59 (1): 24–32.
- Adema C.M., Hertel L.A., Loker E.S. 1999. Evidence from two planorbid snails of a complex and dedicated response to digenean (Echinostome) infection. Parasitology 119 (4): 395–404.
- Adema C.M., Hertel L.A., Miller R.D., Loker E.S. 1997. A family of fibrinogen-related proteins that precipitates parasite-derived molecules is produced by an invertebrate after infection. PNAS 94 (16): 8691–8696.
- Adema C.M., van Deutekom-Mulder E.C., van der Knaap W.P., Sminia T. 1994. Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* haemocytes: the role of oxygen radicals. Parasitology 109 (4): 479–485.
- Adema C.M., Sapp K.K., Hertel L.A., Loker E.S. 2001. Immunobiology of the relationship of echinostomes with snail intermediate hosts. In: Fried B., Graczyk T.K. (eds). Echinostomes as experimental models for biological research. Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers, 149–173.
- Adema C.M., Hanington P.C., Lun C.-M., Rosenberg G.H., Aragon A.D., Stout B.A., Richard M.L., Gross P.S., Loker E.S. 2010. Differential transcriptomic responses of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Mollusca) to bacteria and metazoan parasites, *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei* (Digenea, Platyhelminthes). Molecular Immunology 47 (4): 849–860.
- Adema C.M., Loker E.S. 2015. Digenean-gastropod host associations inform on aspects of specific immunity in snails. Developmental and Comparative Immunology 48 (2): 275–283.
- Adema C.M., Hillier L.W., Jones C.S., Loker E.S., Knight M., Minx P. et al. 2017. Whole genome analysis of a schistosomiasis-transmitting freshwater snail. Nature Communications 8 (15451): 1–11.
- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. Cell 124 (4): 783–801.
- Anderson K.V., Bokla L., Nüssleinvolhard C. 1985. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the toll gene product. Cell 42 (3): 791–798.
- Атаев Г.Л., Добровольский А.А., Фурнье А., Журдане Ж. 1997. Migration and development of mother sporocysts of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Journal of Parasitology 83 (3): 444–453.
- Атаев Г.Л., Бабич П.С., Токмакова А.С. 2013. The study of the sporocyst broodsacs coloring in *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Brachylaemidae). Parasitologiya 47 (5): 372–379.
- Атаев Г.Л., Coustau C. 1999. Cellular response to *Echinostoma caproni* infection in *Biomphalaria glabrata* strains selected for susceptibility/resistance. Developmental and Comparative Immunology 23 (3): 187–198.
- Атаев Г.Л., Прохорова Е.Е., Кудрявцев И.В., Певлевский А.В. 2016. The influence of trematode infection on the hemocyte composition in *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata). Invertebrate Survival Journal 13 (1): 164–171.
- Barbosa L., Caldeira R.L., Carvalho O.S., Vidigal T.H.D.A., Jannotti-Passos L.K., Coelho P.M.Z. 2006. Resistance to *Schistosoma mansoni* by transplantation of APO *Biomphalaria tenagophila*. Parasite Immunology 28 (5): 209–212.
- Barcante T.A., Barcante J.P., Fujiwara R.T., Lima W.S. 2012. Analysis of circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* following *Angiostrongylus vasorum* infection using flow cytometry. Journal of Parasitology Research 2012: 314723.
- Baron O.L., Deleury E., Reichhart J.-M., Coustau C. 2016. The LBP/BPI multigenic family in invertebrates: Evolutionary history and evidences of specialization in mollusks. Developmental and Comparative Immunology 57: 20–30.

- Barracco M.A., Steil A.A., Garqioni R. 1993. Morphological characterization of the hemocytes of the pulmonate snail *Biomphalaria tenagophila*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 88 (1): 73–83.
- Bash P.F. 1969. *Cotylurus lutzi* sp. n. (Trematoda: Strigeidae) and its life cycle. *Journal of Parasitology* 55 (3): 527–539.
- Bayne C.J., Boswell C.A., Loker E.S., Yui M.A. 1985. Plasma components which mediate cellular defecation in the gastropod mollusk *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 9: 523–530.
- Bayne C.J., Hahn U.K., Bender R.C. 2001. Mechanisms of molluscan host resistance and of parasite strategies for survival. *Parasitology* 123 (Suppl. S): 159–167.
- Bayne C.J., Yoshino T.P. 1989. Determinants of compatibility in mollusc–trematode parasitism. *American Zoologist* 29 (2): 399–407.
- Blandin S.A., Levashina E.A. 2004. Thioester-containing proteins and insect immunity. *Molecular Immunology* 40 (12): 903–908.
- Bonner K.M., Bayne C.J., Larson M.K., Blouin M.S. 2012. Effects of Cu/Zn superoxide dismutase (sod1) genotype and genetic background on growth, reproduction and defense in *Biomphalaria glabrata*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (6): e1701.
- Bouchut A., Roger E., Coustau C., Gourbal B., Mitta G. 2006. Compatibility in the *Biomphalaria glabrata*/*Echinostoma caproni* model: potential involvement of adhesion genes. *International Journal for Parasitology* 36 (2): 175–184.
- Castillo M.G., Wu X.J., Dinguirard N., Nyame A.K., Cummings R.D., Yoshino T.P. 2007. Surface membrane proteins of *Biomphalaria glabrata* embryonic cells bind fucosyl determinants on the tegumental surface of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts. *Journal of Parasitology* 93 (4): 832–840.
- Cavalcanti M.G.S., Filho F.C., Mendonça A.M.B., Duarte G.R., Barbosa C.C.G.S., De Castro C.M.M.B., Alves L.C., Brayner F.A. 2012. Morphological characterization of hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. *Micron* 43 (2–3): 285–291.
- Chen J.M., Cooper D.N., Chuzhanova N., Férec C., Patrinos G.P. 2007. Gene conversion: Mechanisms, evolution and human disease. *Nature Reviews Genetics* 8: 762–775.
- Cheng T.C. 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266: 343–379.
- Cheng T.C. 1984. A classification of molluscan hemocytes based on functional evidence. *Comparative Pathobiology* 6: 111–146.
- Cheng T.C., Dougherty W.J. 1989. Ultrastructural evidence for the destruction of *Schistosoma mansoni* sporocysts associated with elevated lysosomal enzyme levels in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 75 (6): 928–941.
- Cheng T.C., Guida V.G. 1980. Hemocytes of *Bulinus truncatus rohlfsi* (Mollusca, Gastropoda). *Journal of Invertebrate Pathology* 35: 158–167.
- Cheng T.C., Guida V.G., Gerhart P.L. 1978. Aminopeptidase and lysozyme activity levels and serum protein concentrations in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacteria. *Journal of Invertebrate Pathology* 32 (3): 297–302.
- Cheng T.C., Jourdan J. 1987. Transient cellular reaction in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) to heterotopic iso-grafts. *Journal of Invertebrate Pathology* 49 (3): 273–278.
- Combes C. 1995. *Interactions durables. Ecologie et evolution du parasitisme*. Paris, Milan, Barcelone, Masson, 524 p.
- Connors V.A., Lodes M.J., Yoshino T.P. 1991. Identification of *Schistosoma mansoni* sporocyst excretory-secretory antioxidant molecule and its effect on superoxide production by *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 387–395.
- Connors V.A. 2003. The schistosome–snail interaction: factors involved in host immunodefense activation and parasite killing in susceptible and resistant *Biomphalaria glabrata*. In: Combes C., Jourdan J. (eds). *Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites*. Perpignan, Presses universitaires de Perpignan, 203–224.
- Connors V.A., Yoshino T.P. 1990. In vitro effect of larval *Schistosoma mansoni* excretory-secretory products on phagocytosis-stimulated superoxide production in hemocytes from *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 76 (6): 895–902.
- Conte A., Ottaviani E. 1995. Nitric oxide synthase activity in molluscan hemocytes. *FEBS Letters* 365 (2–3): 120–124.
- Coustau C., Gourbal B., Duval D., Yoshino T.P., Adema C.M., Mitta G. 2015. Advances in gastropod immunity from the study of the interaction between the snail *Biomphalaria glabrata* and its parasites: a review of research progress over the last decade. *Fish and Shellfish Immunology* 46 (1): 5–16.

- Coustau C., Kurtz J., Moret Y. 2016. A novel mechanism of immune memory unveiled at the invertebrate-parasite interface. *Trends in Parasitology* 32 (5): 353–355.
- Cribb T.H., Bray R.A., Littlewood D.T. 2001. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. *International Journal for Parasitology* 31 (9): 997–1011.
- Damian R.T. 1989. Molecular mimicry: parasite evasion and host defense. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 145: 101–115.
- De Jong-Brink M. 1994. How schistosomes profit from the stress responses they elicit in their hosts. *Advances in Parasitology* 35: 177–256.
- Deininger M.H., Meyermann R., Schluesener H.J. 2002. The allograft inflammatory factor-1 family of proteins. *FEBS Letters* 514 (2–3): 115–121.
- Dheilly N.M., Duval D., Mouahid G., Emans R., Allienne J.-F., Galinier R. et al. 2015. A family of variable immunoglobulin and lectin domain containing molecules in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 48 (1): 234–243.
- Dikkeboom R., van der Knaap W.P., van den Bovenkamp W., Tijnagel J.M., Bayne C.J. 1988. The production of toxic oxygen metabolites by hemocytes of different snail species. *Developmental and Comparative Immunology* 12 (3): 509–520.
- Doolittle R.F. 1992. A detailed consideration of a principal domain of vertebrate fibrinogen and its relatives. *Protein Science* 1 (12): 1563–1577.
- Franchini A., Ottaviani E. 2000. Repair of molluscan tissue injury: role of PDGF and TGF-beta1. *Tissue Cell* 32 (4): 312–321.
- Fryer S.E., Bender R.C., Bayne C.J. 1996. Inhibition of cysteine proteinase from *Schistosoma mansoni* larvae by alpha-macroglobulin from the plasma of *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 82 (2): 343–347.
- Furuta E., Yamaguchi K. 2001. Haemolymph: blood cell morphology and function. In: Barker G.M. (ed.). *The biology of terrestrial molluscs*, 289–306.
- Galnier R., Portela J., Mone Y., Allienne J.-F., Henri H., Delbecq S. et al. 2013. Biomphalysin, a new β pore-forming toxin involved in *Biomphalaria glabrata* immune defense against *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 9 (3): e1003216.
- Galnier R., Tetreau G., Portet A., Pinaud S., Duval D., Gourbal B. 2017. First characterization of viruses from freshwater snails of the genus *Biomphalaria*, the intermediate host of the parasite *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica* 167: 196–203.
- Garcia A.B., Pierce R.J., Gourbal B., Werkmeister E., Colinet B., Reichhart J.-M., Dissous C., Coustau C. 2010. Involvement of the cytokine MIF in the snail host immune response to the parasite *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 6 (9): e1001115.
- Glinski Z., Jarosz J. 1997. Molluscan immune defenses. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 45 (2–3): 149–155.
- Gordy M.A., Pila E.A., Hanington P.C. 2015. The role of fibrinogen-related proteins in the gastropod immune response. *Fish Shellfish Immunology* 46 (1): 39–49.
- Gourbal B., Pinaud S., Beckers G., Van Der Meer J., Conrath U., Netea M. 2018. Innate immune memory: an evolutionary perspective. *Immunological Reviews* 283 (1): 21–40.
- Granath W.O., Yoshino J., Yoshino T.P. 1984. *Schistosoma mansoni*: passive transfer of resistance by serum in the vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 58: 188–193.
- Guillou F., Mitta G., Dissous C., Pierce R., Coustau C. 2004. Use of individual polymorphism to validate potential functional markers: case of a candidate lectin (BgSel) differentially expressed in susceptible and resistant strains of *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 138: 175–181.
- Guillou F., Mitta G., Galonier R., Coustau C. 2007. Identification and expression of gene transcripts generated during an anti-parasitic response in *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 31: 657–671.
- Gust M., Fortier M., Garric J., Fournier M., Gagne F. 2013. Effects of short-term exposure to environmentally relevant concentrations of different pharmaceutical mixtures on the immune response of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Science of the Total Environment* 445–446: 210–218.
- Hahn U.K., Bender R.C., Bayne C.J. 2001. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: role of reactive oxygen species. *Journal of Parasitology* 87: 292–299.
- Hanington P.C., Lun C.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010a. Time series analysis of the transcriptional responses of *Biomphalaria glabrata* throughout the course of intramolluscan development of *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *International Journal for Parasitology* 40 (7): 819–831.

- Hanington P.C., Forys M.A., Dragoo J.W., Zhang S.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010b. Role for a somatically diversified lectin in resistance of an invertebrate to parasite infection. *PNAS* 107 (49): 21087–21092.
- Hanington P.C., Forys M.A., Loker E.S. 2012. Somatically diversified defense factor, FREP3, is a determinant of snail resistance to Schistosoma infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (3): e1591.
- Harris K.R. 1975. The fine structure of encapsulation in *Biomphalaria glabrata*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266: 446–464.
- Hermann P.M., Nicol J.J., Nagle G.T., Bulloch A.G., Wildering W.C. 2005. Epidermal growth factor-dependent enhancement of axonal regeneration in the pond snail *Lymnaea stagnalis*: role of phagocyte survival. *Journal of Comparative Neurology* 492 (4): 383–400.
- Hermann P.M., Nicol J.J., Bulloch A.G., Wildering W.C. 2008. RGD-dependent mechanisms in the endoneurial phagocyte response and axonal regeneration in the nervous system of the snail *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Experimental Biology* 211: 491–501.
- Hertel L.A., Adema C.M., Loker E.S. 2005. Differential expression of FREP genes in two strains of *Biomphalaria glabrata* following exposure to the digenetic trematodes *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (4): 295–303.
- Hokke C.H., Fitzpatrick J.M., Hoffmann K.F. 2007. Integrating transcriptome, proteome and glycome analyses of *Schistosoma* biology. *Trends in Parasitology* 23 (4): 165–174.
- Horak P., Deme R. 1998. Lectins and saccharides in *Lymnaea stagnalis* hemocyte recognition. *Comparative Hematology International* 8 (4): 210–218.
- Humphries J.E., Yoshino T.P. 2008. Regulation of hydrogen peroxide release in circulating hemocytes of the planorbid snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 32 (5): 554–562.
- Ittiprasert W., Miller A., Myers J., Nene V., El-Sayed N.M., Knight M. 2010. Identification of immediate response genes dominantly expressed in juvenile resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* snails upon exposure to *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 169 (1): 27–39.
- Janeway C.A. Jr, Medzhitov R. 2002. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 20: 197–216.
- Jeong, K.H., Heyneman D. 1976. Leukocytes of *Biomphalaria glabrata*: morphology and behavior of granulocytic cell in vitro. *Journal of Invertebrate Pathology* 28 (3): 357–362.
- Jeong K.H., Lie K.J., Heyneman D. 1983. The ultrastructure of the amoebocyte-producing organ in *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 7 (2): 217–228.
- Jiang Y., Loker E.S., Zhang S.-M. 2006. In vivo and in vitro knockdown of FREP2 gene expression in the snail *Biomphalaria glabrata* using RNA interference. *Developmental and Comparative Immunology* 30 (10): 855–866.
- Joky A. 1982. Les amoebocytes de *Biomphalaria glabrata*; role dans les reactions de defense du mollusque. Diplôme de docteur, Paris, 72 p.
- Joky A., Matricon-Gondran M., Benex J. 1983. Fine structural differences in the amoebocytes of *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 7 (4): 669–672.
- Joky A., Matricon-Gondran M. 1985. Response to the amoebocyte-producing organ of sensitized *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Echinostoma caproni* miracidia. *Journal of Invertebrate Pathology* 45 (1): 28–33.
- Jourdane J., Cheng T.C. 1987. The two-phase recognition process of allografts in Brazilian strain of *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Parasitology* 49 (2): 145–158.
- Kinoti G.K. 1971. Observation on the infection of bulinid snails with *Schistosoma manntheei*. II. The mechanism of resistance to infection. *Parasitology* 62 (1): 161–170.
- Kurosawa Y., Hashimoto K. 1996. The immunoglobulin superfamily: where do invertebrate fit in? In: Cooper E. (ed.). *Advances in Comparative and Environmental physiology*, Berlin, Springer, 23: 151–184.
- Lassalle D., Tetreau G., Pinaud S., Galinier R., Crickmore N., Gourbal B., Duval D. 2020. Glabralysins, potential new β -pore-forming toxin family members from the schistosomiasis vector snail *Biomphalaria glabrata*. *Genes* 11 (1): 65.
- Li H., Hambrook J.R., Pila E.A., Gharamah A.A., Fang J., Wu X., Hanington P. 2020. Coordination of humoral immune factors dictates compatibility between *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*. *Elife* 9: e51708.
- Lie K.J., Heyneman D. 1975. Studies on resistance in snails: a specific tissue reaction to *Echinostoma lindoense* in *Biomphalaria glabrata* snails. *International Journal for Parasitology* 5: 621–625.
- Lie K.J., Heyneman D. 1976a. Studies on resistance in snails. 3. Tissue reactions to *Echinostoma lindoense* sporocysts in sensitized and resensitized *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 62 (1): 51–58.
- Lie K.J., Heyneman D. 1976b. Studies on resistance in snails. 6. Escape of *Echinostoma lindoense* sporocysts from encapsulation in the snail heart and subsequent loss of the host's ability to resist infection by the same parasite. *Journal of Parasitology* 62 (2): 298–302.

- Lie K.J., Heyneman D., Jeong K.H. 1976. Studies on resistance in snails. 4. Induction of ventricular capsules and changes in the amebocyte-producing organ during sensitization of *Biomphalaria glabrata* snails. *Journal of Parasitology* 62 (2): 286–291.
- Lie K.J., Heyneman D., Richards C.S. 1977. Studies on resistance in snails: interference by nonirradiated echinostome larvae with natural resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 29: 118–125.
- Lie K.J., Heyneman D., Yau P. 1975. The origin of amebocytes in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 61 (3): 574–576.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1982. Further characterization of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 68 (4): 529–531.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1983. Acquired resistance in snails. Inductor of resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *International Journal for Parasitology* 13 (3): 301–304.
- Lockyer A.E., Jones C.S., Noble L.R., Rollinson D. 2004. Trematodes and snails: an intimate association. *Canadian Journal of Zoology* 82 (2): 251–269.
- Lockyer A.E., Emery A.M., Kane R.A., Walker A.J., Mayer C.D., Mitta G., Coustau C. et al. 2012. Early differential gene expression in haemocytes from resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* strains in response to *Schistosoma mansoni*. *PLoS One* 7 (12): e51102.
- Lodes M.J., Yoshino T. 1990. The effect of schistosome excretory-secretory products on *Biomphalaria glabrata* haemocyte motility. *Journal of Invertebrate Pathology* 56 (1): 75–85.
- Loker E.S., Adema C.M., Zhang S.-M., Kepler T. 2004. Invertebrate immune systems – not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunological Reviews* 198: 10–24.
- Loker E.S., Cimino D.F., Hertel L.A. 1992. Excretory-secretory products of *Echinostoma paraensei* sporocysts mediate interference with *Biomphalaria glabrata* hemocyte functions. *Journal of Parasitology* 78 (1): 104–115.
- Loker E.S., Bayne C.J., Yui M.A. 1986. *Echinostoma paraensei*: hemocytes of *Biomphalaria glabrata* as targets of *Echinostome* mediated interference with host resistance to *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology* 62 (1): 149–154.
- Loker E.S., Bayne C.J., Buckley P.M., Kruse K.T. 1982. Ultrastructure of encapsulation of *Schistosoma mansoni* mother sporocysts by hemocytes of the juveniles of the 10-R2 strain of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Parasitology* 68 (1): 84–94.
- Martins-Souza R.L., Pereira C.A.J., Coelho P.M.Z., Martins-Filho O.A., Negrão-Corrêa D. 2009. Flow cytometry analysis of the circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* following *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitology* 136 (1): 67–76.
- Matricon-Gondran M., Letocart M. 1999. Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata*. I. Characterization of hemocytes and fixed phagocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 74 (3): 224–234.
- Medzhitov R., Janeway C.A. 1997. Innate Immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 91 (3): 295–298.
- Melillo D., Marino R., Italiani P., Boraschi D. 2018. Innate immune memory in invertebrate metazoans: A Critical Appraisal. *Frontiers in Immunology* 9: 1915.
- Mitta G., Galinier R., Tisseyre P., Allienne J.-F., Girerd-Chambaz Y., Guillou F. et al. 2005. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (5): 393–407.
- Mitta G., Adema C.M., Gourbal B., Loker E.S., Theron A. 2012. Compatibility polymorphism in snail/schistosome interactions: From field to theory to molecular mechanisms. *Developmental and Comparative Immunology* 37 (1): 1–8.
- Mitta G., Gourbal B., Grunau C., Knight M., Bridger J.M., Theron A. 2017. The compatibility between *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni*: an increasingly complex puzzle. *Advances in Parasitology* 97: 111–145.
- Mone Y., Gourbal B., Duval D., Du Pasquier L., Kieffer-Jaquinod S., Mitta G. 2010. A large repertoire of parasite epitopes matched by a large repertoire of host immune receptors in an invertebrate host/parasite model. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4: e813.
- Monteil J.F., Matricon-Gondran M. 1991. Hemocyte production in trematode-infected *Lymnaea truncatula*. *Parasitology Research* 77 (6): 491–497.
- Mouahid A., Mone H. 1990. Interference of *Echinoparyphium elegans* with the host-parasite system *Bulinus truncatus*-*Schistosoma bovis* in natural conditions. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 84 (4): 341–348.
- Mount A.S., Wheeler A.P., Paradkar R.P., Snider D. 2004. Hemocyte-mediated shell mineralization in the Eastern oyster. *Science* 304 (5668): 297–300.

- Myers J., Ittiprasert W., Raghavan N., Miller A., Knight M. 2008. Differences in cysteine protease activity in *Schistosoma mansoni* resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* and characterization of the hepatopancreas cathepsin B full-length cDNA. *Journal of Parasitology* 94 (3): 659–668.
- Netea M.G., Joosten L.A.B., Latz E., Mills K.H.G., Natoli G., Stunnenberg H.G. et al. 2016. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease. *Science* 352 (6284): aaf1098.
- Nie L., Cai S.-Y., Shao J.-Z., Chen J. 2018. Toll-like receptors, associated biological roles, and signaling networks in non-mammals. *Frontiers in immunology* 9 (1523): 1–19.
- Noda S. 1992. Effects of excretory-secretory products of *Echinostoma paraensei* larvae on the hematopoietic organ of M-line *Biomphalaria glabrata* snails. *Journal of Parasitology* 78 (3): 512–517.
- Oliveira A.L.D., Levada P.M., Zanotti-Magalhaes E.M., Magalhaes L.A., Ribeiro-Paes J. 2010. Differences in the number of hemocytes in the snail host *Biomphalaria glabrata*, resistant and susceptible to *Schistosoma mansoni* infection. *Genetics and Molecular Research* 9 (4): 2436–2445.
- Ottaviani E. 1983. The blood cells of the freshwater snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Developmental and Comparative Immunology* 7 (2): 209–216.
- Ottaviani E. 2006. Molluscan immunorecognition. *Invertebrate Survival Journal* 3: 50–63.
- Ottaviani E., Franchini A. 1988. Ultrastructural study of haemocytes of the freshwater snail *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Acta Zoologica* 69 (3): 157–162.
- Pan C.T. 1958. The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus*. *Bulletin of Museum of Comparative Zoology* 119: 237–299.
- Pan C.T. 1965. Studies on the host–parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 14: 931–976.
- Pees B., Yang W., Zarate-Potes A., Schulenburg H., Dierking K. 2016. High innate immune specificity through diversified C-type lectin-like domain proteins in invertebrates. *Journal of Innate Immunity* 8: 129–142.
- Peterson N.A., Hokke C.H., Deelder A.M., Yoshino T.P. 2009. Glycotope analysis in miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*: differential expression during the miracidium-to-sporocyst transformation. *International Journal for Parasitology* 39: 1331–1344.
- Pila E.A., Sullivan J.T., Wu X.Z., Fang J., Rudko S.P., Gordy M.A., Hanington P.C. 2016a. Haematopoiesis in molluscs: A review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. *Developmental and Comparative Immunology* 58: 119–128.
- Pila E.A., Tarrabain M., Kabore A.L., Hanington P.C. 2016b. A novel Toll-like receptor (TLR) influences compatibility between the gastropod *Biomphalaria glabrata*, and the digenean trematode *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 12: e1005513.
- Pila E.A., Li H., Hambrook J.R., Wu X., Hanington P.C. 2017. Schistosomiasis from a snail's perspective: advances in snail immunity. *Trends in Parasitology* 33 (11): 845–857.
- Pinaud S., Portela J., Duval D., Nowacki F.C., Olive M.A., Allienne J.-F. et al. 2016. A shift from cellular to humoral responses contributes to innate immune memory in the vector snail *Biomphalaria glabrata*. *PLoS Pathogens* 12: e1005361.
- Pinaud S., Portet A., Allienne J.-F., Belmudes L., Saint-Beat C., Arancibia N. et al. 2019. Molecular characterisation of immunological memory following homologous or heterologous challenges in the schistosomiasis vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 92: 238–252.
- Portela J., Duval D., Rognon A., Galinier R., Boissier J., Coustau C. et al. 2013. Evidence for specific genotype-dependent immune priming in the lophotrochozoan *Biomphalaria glabrata* snail. *Journal of Innate Immunity* 5: 261–276.
- Portet A., Galinier R., Pinaud S., Portela J., Nowacki F., Gourbal B., Duval D. 2018. BgTEP: an antiprotease involved in innate immune sensing in *Biomphalaria glabrata*. *Frontiers in Immunology* 9: 1206.
- Portet A., Pinaud S., Chaparro C., Galinier R., Dhelly N.M., Portela J. et al. 2019. Sympatric and allopatric evolutionary contexts shape differential immune response in *Biomphalaria/Schistosoma* interaction. *PLoS Pathogens* 15: e1007647.
- Prokhorova E.E., Serebryakova M.K., Tokmakova A.S., Ataev G.L. 2018. Hemocytes of mollusc *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Pulmonata). *Invertebrate Survival Journal* 15: 346–351.
- Renwanz L. 1986. Lectins in molluscs and arthropods: their occurrence, origin and roles in immunity. In: Lackie A.M. (ed.). *Immune mechanisms in invertebrate vectors*. Oxford, Oxford Scientific Publications, 81–93.
- Rodelaud D., Barthe D. 1981. The development of the amoebocyte-producing organ in *Lymnaea truncatula* Müller infected by *Fasciola hepatica* L. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 65: 331–341.
- Rowley A.F., Powell A. 2007. Invertebrate immune systems-specific, quasi-specific, or nonspecific? *Journal of Immunology* 179: 7209–7214.

- Salamat Z., Sullivan J. 2009. Involvement of protein kinase C signalling and mitogen-activated protein kinase in the amebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *Developmental and Comparative Immunology* 33 (6): 725–727.
- Sarashina I., Yamaguchi H., Haga T., Iijima M., Chiba S., Endo K. 2006. Molecular evolution and functionally important structures of molluscan dermatopontin: implications for the origins of molluscan shell matrix proteins. *Journal of Molecular Evolution* 62 (3): 307–318.
- Sasaki Y., Furuta E., Kirinoki M., Seo N., Matsuda H. 2003. Comparative studies of the internal defense system of schistosome-resistant and -susceptible amphibious snail *Oncomelania nosophora*: 1. Comparative morphological and functional studies on hemocytes from both snails. *Zoological Science* 20: 1215–1222.
- Schell S.C. 1965. The life history of *Haematoloechus breviplelex* Stafford, 1902 (Trematoda: Haplometridae McMullen, 1937) with emphasis on the development of the sporocysts. *Journal of Parasitology* 51 (4): 587–593.
- Seppälä O., Leicht K. 2013. Activation of the immune defence of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* by different immune elicitors. *Journal of Experimental Biology* 216: 2902–2907.
- Sire C., Rognon A., Theron A. 1998. Failure of *Schistosoma mansoni* to reinfect *Biomphalaria glabrata* snails: acquired humoral resistance or intra-specific larval antagonism? *Parasitology* 117: 117–122.
- Sminia T. 1972. Structure and function of blood and connective tissue cells of the fresh-water pulmonate *Lymnaea stagnalis* studied by electron microscopy and enzyme histochemistry. *Zeitschrift für Zellforschung* 130: 497–526.
- Sminia T. 1974. Haematopoiesis in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* studied by electron microscopy and autoradiography. *Cell and Tissue Research* 150: 443–454.
- Sminia T. 1981. Gastropods. In: Ratcliffe N.A., Rowley A.F. (eds). *Invertebrate Blood Cells*, Vol. I. London, Academic Press, 190–232.
- Sminia T., van der Knaap W.P.W., van Asselt L.A. 1983. Blood cell types and blood cell formation in gastropod molluscs. *Developmental and Comparative Immunology* 7: 665–668.
- Sminia T.A., Barendsen L. 1980. Comparative morphological and enzymes histochemical study on blood cells of the freshwater snails *Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Bulinus truncatus*. *Journal of Morphology* 165: 31–39.
- Sminia T., Borghart-Reinders E., van de Linde A.W. 1974. Encapsulation of foreign material experimentally introduced into the fresh water snail *Lymnaea stagnalis*: an electron microscopic and autoradiographic study. *Cell and Tissue Research* 153: 307–326.
- Souza S.S., Andrade Z.A. 2006. On the origin of the *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101: 213–218.
- Spatz L., Cappa S.M.G., Ostrowski de Núñez M. 2012. Susceptibility of wild populations of *Biomphalaria* spp. from neotropical South America to *Schistosoma mansoni* and interference of *Zygocotyle lunata*. *Journal of Parasitology* 98 (6): 1291–1295.
- Stumpf J.L., Gilbertson D.E. 1980. Differential leukocytic responses of *Biomphalaria glabrata* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Invertebrate Pathology* 35 (2): 217–218.
- Sullivan J.T. 1988. Hematopoiesis in three species of gastropods following infection with *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Echinostomatidae). *Transactions of the American Microscopical Society* 107 (4): 335–361.
- Sullivan J.T. 1990. Long-term survival of heterotopic allografts of the amebocyte-producing organ in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Transactions of the American Microscopical Society* 109 (1): 52–60.
- Sullivan J.T., Belloir J.A., Beltran R.V., Grivakis A., Ransone K.A. 2014. Fucoidan stimulates cell division in the amebocyte-producing organ of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 123: 13–16.
- Sullivan J.T., Bulman C.A., Salamat Z. 2011. Effect of crude lipopolysaccharide from *Escherichia coli* O127:B8 on the amebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *Developmental and Comparative Immunology* 35 (11): 1182–1185.
- Sullivan J.T., Hu P.C. 1996. Fate of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria obstructa*. *Journal of Parasitology* 82 (5): 743–747.
- Sullivan J.T., Lares R.R., Galvan A.G. 1998. *Schistosoma mansoni* infection inhibits maturation of ovotestis allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Journal of Parasitology* 84 (1): 82–87.
- Sullivan J.T., Pikiós S.S., Alonzo A.Q. 2004. Mitotic responses to extracts of miracidia and cercariae of *Schistosoma mansoni* in the amebocyte-producing organ of the snail intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 90 (1): 92–96.
- Sullivan J.T., Richards C.S., Joe L.K., Heyneman D. 1982. *Ribeiroia marini*: irradiated miracidia and induction of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 53 (1): 17–25.

- Sullivan J.T., Spence J.V. 1999. Factors affecting adoptive transfer of resistance to *Schistosoma mansoni* in the snail intermediate host, *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 85 (6): 1065–1071.
- Takeda K., Kaisho T., Akira S. 2003. Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology* 21 (1): 335–76.
- Takeda K., Akira S. 2015. Toll-like Receptors. *Current Protocols in Immunology* 109: 14.12.1–14.12.10.
- Tetreau G., Pinaud S., Portet A., Galinier R., Gourbal B., Duval D. 2017. Specific pathogen recognition by multiple innate immune sensors in an invertebrate. *Frontiers in Immunology* 8: 1249.
- Theron A., Coustau C. 2005. Are *Biomphalaria* snails resistant to *Schistosoma mansoni*? *Journal of Helminthology* 79 (3): 187–191.
- Tokmakova A.S., Serebryakova M.K., Prokhorova E.E., Ataev G.L. 2020. Study of the proliferative activity of hemolymph cells in pulmonate molluscs. *Invertebrate Survival Journal* 17: 63–74.
- van der Knaap W.P.W. 1981. Recognition of foreignness in the internal defence system of the fresh-water gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Developmental and Comparative Immunology* 1: 91–97.
- van der Knaap W.P.W., Loker E.S. 1990. Immune mechanisms in trematode – snail interactions. *Parasitology Today* 6 (6): 176–182.
- van der Knaap W.P.W., Adema C.M., Sminia T. 1993. Invertebrate blood cells: morphological and functional aspects of the haemocytes in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Haematology International* 3: 20–26.
- Vasquez R.E., Sullivan J.T. 2001. Hematopoietic tissue allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata) induce humoral immunity to *Schistosoma mansoni*. *Developmental and Comparative Immunology* 25 (7): 561–564.
- Vasta G.R., Feng C., Bianchet M.A., Bacvaroff T.R., Tasumi S. 2015. Structural, functional, and evolutionary aspects of galectins in aquatic mollusks: from a sweet tooth to the trojan horse. *Fish and Shellfish Immunology* 46 (1): 94–106.
- Wallet S.M., Puri V., Gibson F.C. 2018. Linkage of infection to adverse systemic complications: periodontal disease, Toll-like receptors, and other pattern recognition systems. *Vaccines* 6 (2): 21.
- Webster J.P., Davies C.M. 2001. Coevolution and compatibility in the snail-schistosome system. *Parasitology* 123 (7): 41–56.
- Wu X.-J., Dinguirard N., Sabat G., Lui H., Gonzalez L., Gehring M. et al. 2017. Proteomic analysis of *Biomphalaria glabrata* plasma proteins with binding affinity to those expressed by early developing larval *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 13 (5): e1006081.
- Yamaguchi K., Furuta E., Shimozaawa A. 1988. Morphological and functional studies on hemolymph cells of land slug, *Incilaria bilineata*, *in vivo* and *in vitro*. In: Kuroda Y., Kurstak E., Maramorosch K. (eds). *Invertebrate and fish tissue culture. Proceedings of the 7th international conference on invertebrate and fish tissue culture*, Japan, 1987. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 247–250.
- Yoshino T.P., Brown M., Wu X.-J., Jackson C.J., Ocádiz-Ruiz R., Chalmers I.W. et al. 2014. Excreted/secreted *Schistosoma mansoni* venom allergen-like 9 (SmVAL9) modulates host extracellular matrix remodelling gene expression. *International Journal of Parasitology* 44: 551–563.
- Yoshino T.P., Dinguirard N., Kunert J., Hokke C.H. 2008. Molecular and functional characterization of a tandem-repeat galectin from the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*, intermediate host of the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Gene* 411: 46–58.
- Yoshino T.P., Granath W.O. 1983. Identification of antigenically distinct hemocyte subpopulations in *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) using monoclonal antibodies to surface membrane markers. *Cell Tissue Research* 232: 553–564.
- Yoshino T.P., Granath W.O. 1985. Surface antigens of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) hemocytes: functional heterogeneity in cell subpopulations recognized by a monoclonal antibody. *Journal of Invertebrate Pathology* 45: 174–186.
- Yoshino T.P., Lodes M.J., Rege A.A., Chappell C.L. 1993. Proteinase activity in miracidia, transformation excretory-secretory products, and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 79 (1): 23–31.
- Yoshino T.P., Wu X.-J., Gonzalez L.A., Hokke C.H. 2013. Circulating *Biomphalaria glabrata* hemocyte subpopulations possess shared schistosome glycans and receptors capable of binding larval glycoconjugates. *Experimental Parasitology* 133 (1): 28–36.
- Zhang S.-M., Adema C.M., Kepler T.B., Loker E.S. 2004. Diversification of Ig superfamily genes in an invertebrate. *Science* 305: 251–254.
- Zhang S.-M., Loker E.S. 2004. Representation of an immune responsive gene family encoding fibrinogen-related proteins in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Gene* 341: 255–266.

- Zhang S.-M., Zeng Y., Loker E.S. 2008. Expression profiling and binding properties of fibrinogen-related proteins (FREPs), plasma proteins from the schistosome snail host *Biomphalaria glabrata*. *Innate Immunity* 14 (3): 175–189.
- Zhang S.-M., Loker E.S., Sullivan T.J. 2016. Pathogen-associated molecular patterns activate expression of genes involved in cell proliferation, immunity and detoxification in the amebocyte-producing organ of the snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 56: 25–36.

DEFENSE REACTIONS OF PULMONATE MOLLUSCS DURING PARASITIC INVASION

© G. L. Ataev, E. E. Prokhorova, A. S. Tokmakova

Keywords: pulmonate molluscs, cellular immunity, humoral immunity, hemocytes, hematopoiesis

SUMMARY

Defense reactions of pulmonate molluscs have been actively studied in the last decades, which resulted in the accumulation of abundant data on various aspects of their immune response both at the cellular and the humoral level. Several reviews analyzing this material have recently been published (Adema, Loker, 2015; Pila et al., 2016a; Melillo et al., 2018; Li et al., 2020). However, the last reviews on this subject in Russian were published more than 15 years ago (Ataev, Polevshchikov, 2004; Ataev et al., 2005a, b; Galaktionov, 2005). This review aims to generalize modern ideas about the immune response of pulmonate molluscs and to outline the main problems in this area. It considers defense reactions of the molluscs to various immunization factors, with the focus on the response to trematode invasion. This is due not only to the importance of pulmonates as intermediate hosts of trematodes but also but the possible involvement of these parasites in the development of molluscan immunity.