

Клетки полости тела аннелид: морфология, цитогенез, функции

М.В. Становова

*МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, кафедра Зоологии беспозвоночных,
Москва, 119991 Россия.*

E-mail: mvstanovova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ: В статье дан краткий обзор основных типов целомоцитов, описанных для представителей таксона кольчатых червей. Охвачены амебоциты, элеоциты и частично эритроциты. Рассмотрено морфологическое разнообразие и функции различных типов целомоцитов у представителей трех классов аннелид. Также обсуждаются гипотезы о возможных сайтах пролиферации и дифференциации этих типов клеток. Как цитировать эту статью: Stanovova M.V. 2019. Morphology, cytogenesis and functions of Annelida coelomocytes // *Invert. Zool.* Vol.16. No.3. P.254–282. doi: 10.15298/invertzool.16.3.06

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: врожденный иммунитет, клеточные иммунные реакции, целомоциты, амебоциты, элеоциты, аннелиды, полихеты, олигохеты, пиявки.

Morphology, cytogenesis and functions of Annelida coelomocytes

M.V. Stanovova

Moscow Lomonosov State University, Vorobyovy gory, 1/12, Moscow, 119991 Russia.

E-mail: mvstanovova@yandex.ru

ABSTRACT: Basic types of free cells from coelomic fluid of annelids are reviewed. The main types within described ones are amoebocytes and eleocytes; erythrocytes are also reviewed. In different annelid classes and families, the morphology and functioning of coelomocytes differ considerably. Main hypotheses on cytogenesis of coelomocytes in different groups are discussed.

How to cite this article: Stanovova M.V. 2019. Morphology, cytogenesis and functions of Annelida coelomocytes // *Invert. Zool.* Vol. 16. No.3. P.254–282. doi: 10.15298/invertzool.16.3.03

KEY WORDS: innate immunity, cell defensive reactions, coelomocytes, amoebocytes, eleocytes, Annelida, Polychaeta, Oligochaeta, Hirudinea.

В связи с увеличением числа исследований, основанных на молекулярно-филогенетических подходах, систематика таксона аннелид на сегодняшний день в значительной степени пересматривается (McHugh, 2000; Rousset *et al.*, 2007; Struck *et al.*, 2011). Взаимоотношения различных групп внутри этого таксона все еще являются не до конца установленными. Поскольку большая часть исследований, рассмотренных в этом обзоре, опирается на традиционную систематику, во избежание путаницы мы также будем придерживаться «классической» системы, подразделяя таксон (тип) Annelida на группы (классы) Polychaeta, Oligochaeta и Hirudinea.

Введение

За время изучения иммунной реактивности различных групп беспозвоночных животных получены значительные объемы информации. Обобщить предыдущие и ныне существующие концепции, касающиеся иммунитета беспозвоночных вообще и в пределах конкретных таксонов, не представляется возможным в рамках одного обзора. Развитию иммунологии беспозвоночных, а точнее — самого представления об эволюционной иммунологии, посвящено множество книг и монографий (см., например: Ratcliffe *et al.*, 1985; Галактионов, 2005 [Galaktionov, 2005]; Söderhäll, 2010; Cooper, 2018). Это направление представляется перспективным не только с точки зрения фундаментальных исследований, но и с точки зрения возможного применения знаний о многообразии иммунных систем в самых разных областях деятельности человека.

Аннелиды — одна из ключевых групп беспозвоночных животных, освоившая все возможные местообитания, кроме воздушной среды. Отличительные черты строения аннелид, включающие метамерное строение тела, хорошо развитые целом и кровеносную систему (в большинстве случаев замкнутую), позволили аннелидам развить эффективные стратегии выживания и обеспечили значительное разнообразие форм. Вопрос о «прогрессивности» или «примитивности» тех или иных черт строения является спорным, и в данной работе ему не уделяется внимания.

Заполняющая целомическую полость тела аннелид жидкость выполняет множество важных функций: опорную, транспортную, половую, защитную (иммунную). Согласно одной из точек зрения, целомическую жидкость беспозвоночных животных так же, как и кровь, можно причислить к так называемым «тканям внутренней среды», которые, по сути, являются разновидностью соединительной ткани (Горышина, Чага, 1990 [Goryshina, Chaga, 1990]).

И в крови, и в целомической жидкости большинства аннелид присутствуют специализированные популяции свободных клеток. Наиболее общее название форменных элементов целомической жидкости — целомоциты, клеток крови — гемоциты. Вопрос о взаимосвязи и взаимоотношениях популяции целомоцитов с популяцией гемоцитов остается открытым. Существует предположение, что у некоторых видов может происходить миграция клеточных элементов между целомической полостью и кровеносной системой (Lunetta-D'Ancona, Russo, 1982; Vetvicka, Sima, 2009). Это создает дополнительные сложности для корректного определения как целомоцитов, так и гемоцитов.

Единой классификации целомоцитов до сих пор не существует даже в рамках отдельных классов аннелид. В первую очередь это связано с тем, что основным критерием для разделения этих клеток на группы были и остаются морфологические признаки, которые по-разному интерпретируются исследователями. Во многом интерпретация зависит от выбранных методик наблюдения, фиксации и окраски. Часто у близких видов аннелид выделяют разное число типов целомоцитов. Кроме того, за все время изучения этого вопроса по отношению к клеткам полости тела кольчатых червей употреблялись самые разные термины. К примеру, в ранних работах (Romieu, 1923; Thomas, 1930) встречается термин «лейкоциты», так как при описании этих клеток авторы проводили прямую аналогию с клетками крови позвоночных животных. Отсутствие единой номенклатуры затрудняет обобщение разных систем классификации. Наконец, для значительного числа изученных с этой точки зрения видов кольчатых червей существуют только описания, сделанные в конце XIX – начале XX столетия, и с тех пор эта информация не обновлялась и не подтверждалась современными методами.

Были предприняты попытки обобщить существующие классификации по морфологическому и функциональному признаку. Согласно одной из самых общих из предло-

женных классификаций, среди целомоцитов аннелид можно выделить два основных типа: амебоциты и элеоциты. У полихет также выделен третий тип целомоцитов — эритроциты. У олигохет и пиявок эритроциты не описаны как отдельный тип клеток (Vetvicka, Sima, 2009).

Функции целомоцитов во многом связаны с функциями самого целома. Эти клетки могут выполнять транспортную функцию (например, перенос кислорода), трофическую (в частности, осуществляя питание созревающих гамет), и, вероятно, выделительную и накопительную функции. Также целомоциты являются ключевым компонентом иммунной системы аннелид. Они обеспечивают распознавание чужеродного материала, его последующую элиминацию или изоляцию.

Целомоциты разных типов могут продуцировать гуморальные факторы, участвующие в иммунном ответе (Галактионов, 2005 [Galaktionov, 2005]; Sima, 1994). Активные факторы плазмы целомической жидкости — различные лектины, белки иммуноглобулинового семейства, белки системы «протокомплемента» — осуществляют распознавание чужеродного материала, опсонизацию, агрегацию, активацию фагоцитоза и весь сигналинг, необходимый для иммунного ответа на уровне всего организма.

Данный обзор посвящен в первую очередь морфологическим характеристикам целомоцитов аннелид и их участию в клеточных защитных реакциях, в то время как способность этих клеток производить определенные факторы гуморального иммунитета практически не обсуждается. В современных исследованиях все чаще появляются сведения о молекулярной природе тех или иных механизмов иммунного ответа. Группа аннелид рассматривается в контексте эволюционно-физиологического подхода как одна из ключевых групп лотрохозойных животных.

Общее представление о современном состоянии молекулярной иммунологии беспозвоночных животных и, в частности, ан-

нелид можно получить в специализированных обзорах (Cooper *et al.*, 2002; Flajnik, Du Pasquier, 2004; Engelmann *et al.*, 2005; Little *et al.*, 2005; Salzet *et al.*, 2006; Schulenburg *et al.*, 2007; Gorbushin, 2018).

Oligochaeta

Представители олигохет являются популярными моделями для изучения иммунной реактивности беспозвоночных животных (Bilej, 1994; Cooper, Roch, 2003; Bilej *et al.*, 2010). Именно с изучения иммунной реактивности этих животных в 60-е годы прошлого века возник интерес к изучению иммунологии беспозвоночных вообще. На представителях семейства Lumbricidae было показано наличие у аннелид механизмов, сходных с иммунной памятью. Эксперименты показали способность дождевых червей к отторжению аллогенных трансплантатов (Cooper, 1968, 1969). Аллогенным называется материал, принадлежащий данному биологическому виду, но имеющий генетические отличия от организма конкретного животного. За счет имбридинга популяции дождевых червей имеют определенную генетическую мозаичность, поэтому наиболее острые реакции отторжения наблюдались при использовании в качестве трансплантационных пар червей из разных географических зон. Сам факт отторжения аллотрансплантата и формирования при этом первичной иммунной памяти говорит о наличии определенной специфичности иммунного реагирования. Эти эксперименты стали в некотором смысле революционными, так как традиционно было принято считать, что специфическое иммунное реагирование свойственно только высшим позвоночным животным. Изучение реакции на трансплантаты у разных групп беспозвоночных животных началось именно с экспериментов Купера. Подробнее с развитием этого направления можно ознакомиться в специализированном обзоре (Cooper, Roch, 1994).

Благодаря интересу исследователей к этой группе животных, с точки зрения изу-

чения клеточных элементов целомической жидкости олигохеты, с одной стороны, являются наиболее полно изученной группой аннелид. С другой стороны, большая часть информации получена в ходе исследований модельных объектов — преимущественно представителей семейства Lumbricidae (в первую очередь, родов *Lumbricus* Linnaeus, 1758 и *Eisenia* Malm, 1877).

Разнообразие типов целомоцитов значительно различается у представителей разных семейств и даже внутри одного семейства. Показано, что численность и состав популяции целомоцитов олигохет является видоспецифичной характеристикой (Kurek *et al.*, 2007). Кроме того, качественно-количественное соотношение разных типов клеток зависит от индивидуальных черт (например, возраста) и физиологического состояния конкретной особи, а также в значительной степени от внешних условий, в том числе, времени года и степени загрязненности местообитания (Jamieson, 1992; Cooper, 1996; Kurek, Plytycz, 2003; Kurek *et al.*, 2007). Формирование универсальной классификации целомоцитов также осложняется присутствием в целомической жидкости клеток разной степени зрелости и с разным функциональным статусом.

Среди целомоцитов олигохет, согласно одной из самых обобщенных классификаций, можно выделить два основных типа: амебоциты и элеоциты (Vetvicka, Sima, 2009). Внутри этих типов клеток возможна более полная и сложная морфофункциональная дифференциация.

В общем случае амебоциты — это подвижные клетки, образующие псевдоподии и, как правило, способные к фагоцитозу. На основании цитоморфометрических и цитохимических признаков у *Lumbricus terrestris* Linnaeus, 1758, типичного представителя семейства Lumbricidae, было выделено четыре основных типа амебоцитов: базофильные, ацидофильные, нейтрофильные и гранулоциты (Stein *et al.*, 1977; Cooper, 1996) (рис. 1).

Базофильные клетки в целомической жидкости этих червей самые многочислен-

ные. Их размер варьирует от 5 до 30 мкм, у некоторых особей достигает 60–100 мкм. Клетки могут иметь небольшие базофильные гранулы и/или слабо выраженные пучки филаментов. В живом виде базофильные клетки образуют псевдоподии различной формы. В более крупных базофильных целомоцитах есть небольшие, но различимые на светооптическом уровне вакуоли. Хроматин в ядрах этих клеток обычно находится в конденсированном состоянии.

Ацидофильные клетки обычно имеют гранулы, и у *L. terrestris* могут быть подразделены на два типа в зависимости от размера гранул. В среднем размеры клеток составляют 10–30 мкм. В клетках I типа много мелких гранул, ядро смещено от центра к периферии; цитоплазма клеток II типа содержит более крупные ацидофильные гранулы или везикулы.

Нейтрофилы имеют очень разные размеры — от 12 до 40–50 мкм. В этих клетках могут наблюдаться маленькие вакуоли и/или небольшие гранулы, неотличимые по окраске от цвета цитоплазмы. Часто ядро в этих клетках сравнительно крупное.

Гранулоциты были выделены авторами в отдельный тип благодаря тому, что их гранулы хорошо видны без предварительной окраски. Гранулы этого типа клеток разного размера и окрашиваются по-разному; характерной особенностью является наличие в одной клетке и базофильных, и ацидофильных гранул.

Кроме перечисленных типов, авторы отметили у *L. terrestris* наличие клеток, которые сочетали в себе черты двух или более типов; их численность составила примерно 2% от общей популяции (Stein *et al.*, 1977).

На основании ультраструктурных данных у этого же вида земляных червей были выделены другие, не аналогичные предыдущей классификации три типа амебоцитов: гиалиновые амебоциты, или лейкоциты (на гистологических препаратах имеющие базофильную окраску), гранулярные амебоциты (нейтрофильные и базофильные) и амебоциты с включениями (ацидофильные) (Linthicum *et al.*, 1977; Cooper, 1996).

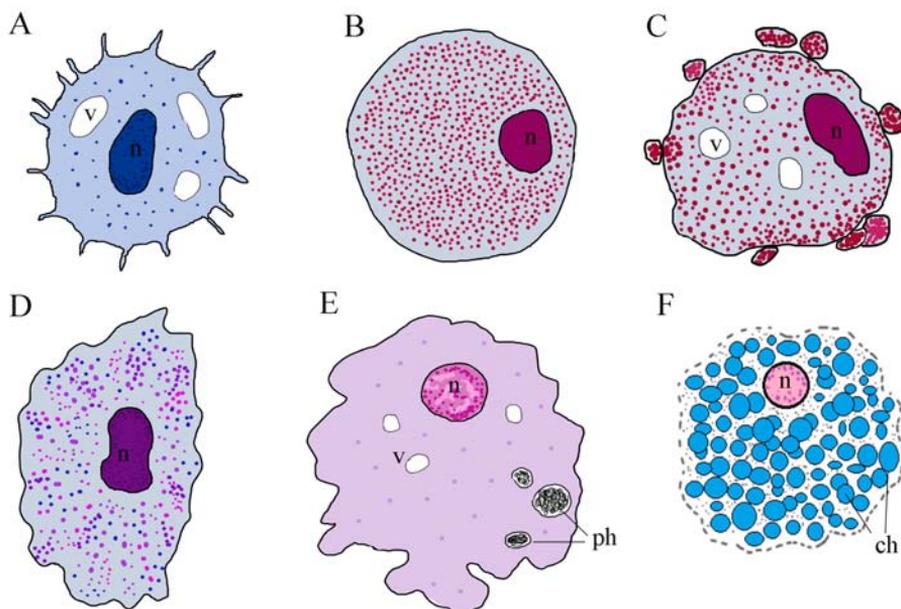


Рис. 1. Целоциты *Lumbricus terrestris* (по Stein *et al.*, 1977). А — базофил; В — ацидофил I типа; С — ацидофил II типа с пузырьками на поверхности; D — гранулоцит; E — нейтрофил; F — элеоцит. Обозначения: ch — хлорогеновые гранулы; n — ядро; ph — фагосомы; v — вакуоль. Цветными точками отмечены различные гранулы в цитоплазме (красные и розовые — ацидофильные, синие — базофильные).

Fig. 1. Coelomocytes of *Lumbricus terrestris* (based on Stein *et al.*, 1977). A — basophil; B — type I acidophil; C — type II acidophil with vesicles on surface; D — granulocyte; E — neutrophil; F — eleocyte. Abbreviations: ch — chloragogen granules; n — nucleus; ph — phagosomes; v — vacuole. Different types of granules in cytoplasm showed with color spots (red and pink for acidophilic, blue for basophilic ones).

Позднее обе предложенные классификации применялись к целоцитам других видов лямблирид (табл. 1). У *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) выделены базофильные и ацидофильные лейкоциты, нейтрофильные амёбоциты и гранулоциты (Calisi *et al.*, 2009). У *Dendrobaena veneta* Eisen, 1873 обнаружены амёбоциты (аналогичные в этой классификации гиалиновым амёбоцитам, лейкоцитам) и гранулоциты (Adamowicz, 2005). При этом амёбоциты были подразделены на два типа на основании данных сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии. Гиалиновые и гранулярные амёбоциты также были выделены у *Allolobophora chlorotica* (Savigny, 1826) (Kurek *et al.*, 2007).

По всей видимости, выделение двух основных типов амёбоцитов (гиалиновые амёбоциты (лейкоциты) и гранулярные амёбо-

циты) на основании морфологических и ультраструктурных характеристик является более универсальным и вполне применимо к разным видам лямблирид.

Информация о целоцитах представителей других семейств более фрагментарна и иногда противоречива. Попытки создать общую классификацию целоцитов предпринимались для представителей Enchytraeidae. У представителей родов *Analycus* Levinson, 1884, *Achaeta* Vejdovský, 1878, *Henlea* Michaelsen, 1889, *Bryodrilus* Ude, 1892 и *Grania* Southern, 1913 был описан всего один тип амёбоцитов (Brinkhurst, Jamieson, 1971). У *Enchytraeus fragmentosus* Henle, 1837 на основании ультраструктурных данных были выделены два типа: фагоциты (амёбоциты) и мукоциты, в ранних исследованиях описанные как «лимфоциты» (Hess, 1970). По-

Таблица 1. Типы целомочитов, описанные для некоторых видов олигохет.
Table 1. Types of coelomocytes described for certain Oligochaeta species.

Тип целомочитов Types of coelomocytes	Морфологические признаки Morphological features	Другие названия Other names	Вид олигохет Species	Источник Source (paper)
Базофильный амебоцит Basophilic amoebocyte	Небольшие базофильные гранулы и/или слабо выраженные пучки филаментов, небольшие вакуоли Small basophilic granules and/or clusters of filaments, small vacuoles			
Ацидофильный амебоцит Acidophilic amoebocyte	Ацидофильные гранулы Acidophilic granules			
Нейтрофильный амебоцит Neutrophilic amoebocyte	Маленькие вакуоли и/или небольшие гранулы, неотличимые по окраске от цвета цитоплазмы, часто крупное ядро Small vacuoles and/or small granules (stained indistinguishable from the cytoplasm), nucleus is often relatively large		<i>Lumbricus terrestris</i> <i>Eisenia foetida</i>	Stein <i>et al.</i> , 1977 Calisi <i>et al.</i> , 2009
Гранулоцит Granulocyte	Множество гранул, заметных без окраски; часто наличие в одной клетке и базофильных, и ацидофильных гранул Plenty of visible without staining granules; presence of basophilic and acidophilic granules within one cell			
Элеоцит Eteocyte	Относительно крупные округлые/овальные клетки, есть сферические гранулы и вакуоли, запас липидов и гликогена Relatively large cells of rounded/oval shape, with spherical granules and vacuoles, cytoplasm contains reserves of lipids and glycogen	Хлорогоцит, эргастопластический хлорогоцит Chloragocyte, ergastoplastic chloragocyte	Все виды люмбрицид, описаны для представителей других семейств Known for all Lumbricidae species and for certain representatives of other families	Jamieson, 1981, Jamieson, 1992; Cooper, 1996; Affar <i>et al.</i> , 1998; Vetvicka, Sima, 2009

Таблица 1 (продолжение).
Table 1 (continued).

Тип целомоцитов Types of coelomocytes	Морфологические признаки Morphological features	Другие названия Other names	Вид олигохет Species	Источник Source (paper)
Гиалиновый амебцит Hyaline amoebocyte	Окраска базофильная; образуют псевдоподии, в цитоплазме множество мелких вакуолей и лизосом; ядро расположено в центре Basophilic staining; form pseudopodia; many small vacuoles and lysosomes in cytoplasm; centrally located nucleus	Лейкоцит Leucocyte	<i>Lumbricus terrestris</i> <i>Dendrobaena veneta</i> <i>Allolobophora chlorotica</i>	Linthicum <i>et al.</i> , 1977; Cooper, 1996; Adamowicz, 2004; Kurek <i>et al.</i> , 2007
Гранулярный амебцит Granular amoebocyte	Окраска ацидофильная или нейтрофильная; цитоплазма разделяется на эктоплазму без оргanelл и эндоплазму; ядро часто смещено к периферии Acidophilic or neutrophilic staining; cytoplasm is divided into ectoplasm without organelles and endoplasm; nucleus is often shifted to the periphery			
Мукоцит Mucocyte	Гранулы с большим количеством мукополисахаридных и протениновых комплексов Granules with plenty of mucopolysaccharide and protein complexes	Лимфоцит, гранулярный мукоцит Lymphocyte, granular mucocyte	<i>Enchytraeus fragrantosus</i> <i>Lumbricillus mirabilis</i> , <i>L. reynoldsoni</i> , <i>L. rivalis</i> (Enchytraeidae) <i>Pontodrilus bermudensis</i> (Megascolecidae)	Richards, 1980; Jamieson <i>et al.</i> , 1981
«Мукоцито- подобная» клетка “Mucocyte-like” cell	Клетки без псевдоподий, с окруженными мембраной гранулами, выраженным шероховатым ЭПР и большим количеством рибосом Cells without pseudopodia, contain membrane granules, well-developed rough endoplasmic reticulum and many ribosomes		Сем. Tubificidae Fam. Tubificidae	Envall <i>et al.</i> , 2008

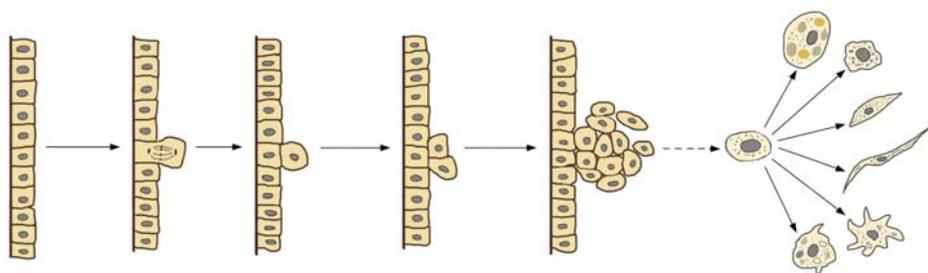


Рис. 2. Гипотетическая схема образования целомоцитов аннелид из целомического эпителия. Пунктирной стрелкой показано формирование клетки-предшественника.

Fig. 2. Hypothetical scheme of coelomocytes development from coelomic epithelium. Dotted arrow shows the differentiation of a precursor cell.

зднее «гранулярный мукоцит» был описан как основной тип целомоцитов у *Lumbricillus mirabilis* Tynen, 1969, *L. reynoldsoni* Backlund, 1948 и *L. rivalis* (Levinsen, 1884). Клетки этого типа содержат гранулы, включающие большое количество мукополисахаридных и протеиновых комплексов с очень низким содержанием липидных компонентов. Эти гранулы образуются в аппарате Гольджи и имеют разную структуру в зависимости от степени «зрелости». Амебоциты представителей рода *Lumbricillus* подразделены на два типа, различающихся в первую очередь числом и формой псевдоподий (Richards, 1980).

Мукоциты также описаны как основной из типов целомоцитов для *Pontodrilus bermudensis* Beddard, 1891 (сем. Megascolecidae) (Jamieson *et al.*, 1981, Wampler, Jamieson, 1986). Согласно этому описанию, мукоциты представляют собой стадию дифференциации другого клеточного типа — «линоцитов».

Клетки, сходные по морфологии с мукоцитами энхитреид и мегасколецид, описаны для представителей семейства Tubificidae (Envall *et al.*, 2008). Авторы выделили только один тип целомоцитов у изученных восьми видов: пяти представителей подсемейства Naidinae и трех представителей подсемейства Rhyacodrilinae. Это клетки без псевдоподий, с окруженными мембраной гранулами, выраженным шероховатым ЭПР и большим количеством рибосом. По мнению

авторов, эти клетки являются отдельным, ранее не отмеченным, типом, но из всех описанных типов целомоцитов к ним ближе всего именно мукоциты.

По всей видимости, в общем случае пул амебоцитов берет начало в преобразованных участках целомического эпителия в разных частях организма олигохет (рис. 2, 3). Описанные пролиферативные ткани, как правило, являются специализированными участками целотелия (Fischer, 1993; Sima, Slipka, 1995). Одним из возможных источников амебоцитов являются отдельные пролиферативные ткани на участках диссипиментов (Burke, 1974). Специальные органы, т.н. «лимфоидные железы» (или «кровенные железы», «кровенные фолликулы»), были описаны для некоторых представителей родов *Lumbricillus*, *Sparganophilus* Benham, 1892, *Maoridrilus* Michaelsen, 1899, *Pheretima* Kinberg, 1867 и *Pontodrilus* Perrier, 1874 (Sima, 1994). Эти органы представляют собой видоизмененный на определенных участках эпителий выстилки сосудов. Непосредственно популяция амебоцитов у люмбрицид, по всей видимости, в большей степени связана с участками париетального целотелия и выстилкой диссипиментов (Stein, Cooper, 1983; Noma *et al.*, 2008) (рис. 3А, С).

Для некоторых видов показано повышение пролиферативной активности в конкретных участках целотелия в ответ на различные виды стресса. Так, для земляных

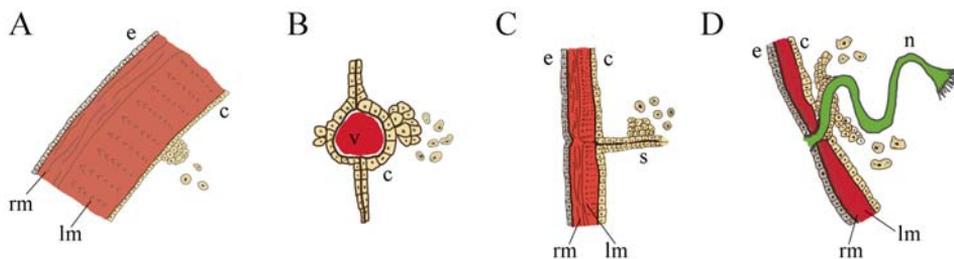


Рис. 3. Возможные сайты пролиферации целомоцитов в организме аннелид. А — целотелий стенки тела (париетальный); В — целотелий выстилки кровеносных сосудов (образование т.н. «лимфоидных желез»); С — целотелий диссепимента; D — разрастание целотелия вокруг нефридия.

Обозначения: с — целомический эпителий; е — поверхностный эпителий с кутикулой; lm — продольная мускулатура; n — нефридий; rm — кольцевая мускулатура; s — диссепимент; v — просвет кровеносного сосуда.

Fig. 3. Possible sites of coelomocytes proliferation in annelids. A — coelomic lining of the body wall (parietal epithelium); B — coelomic lining of the blood vessel (so-called “lymphoid gland”); C — coelomic lining of the septa; D — excrescence of coelomic epithelium around nephridia.

Abbreviations: c — coelomic epithelium; e — surface epithelium with the cuticle; lm — longitudinal musculature; n — nephridium; rm — round musculature; s — septa; v — lumen of the blood vessel.

червей характерно выбрасывание части целомической жидкости через дорсальные поры: это происходит за счет конвульсивных сокращений мускулатуры. В естественных условиях этот процесс используется в качестве защитной реакции при контакте с хищниками, а также при обезвоживании для сохранения осмотического баланса. В эксперименте подобная реакция происходит в ответ на стимулирование током, ультразвуком или небольшими дозами этанола. После потери целомической жидкости происходит постепенное восстановление пула целомоцитов. У *Dendrobaena veneta* при этом наблюдается активная пролиферация в участках целотелия вокруг метанефридиев и тифлозоля (Olchawa *et al.*, 2006; Нона *et al.*, 2008).

Для *Eisenia foetida* показана активация пролиферации клеток-предшественников на участках париетального эпителия в ответ на стимуляцию конкретными антигенами (Bilej *et al.*, 1992).

Мезодермальное происхождение всех целомоцитов люмбрицид было также показано с использованием моноклональных антител, связывающихся с поверхностными маркерами целомоцитов (Engelmann *et al.*, 2002, 2005).

Амебоциты олигохет принимают частичное участие в транспорте и накоплении питательных веществ (Valembois, Cazaux, 1970). Однако их основной функцией, по всей видимости, является участие в защитных реакциях. Амебоциты вовлечены в процесс распознавания чужеродного материала и его последующей элиминации на всех стадиях иммунного ответа (Sima, 1994).

У большинства видов кольчатых червей не происходит коагуляции плазмы, поэтому повреждения покровов закрываются пробкой, состоящей из агрегированных целомоцитов, в первую очередь именно амебоцитов. Для предотвращения потери жидкости первичная реакция на ранение — резкое сокращение мышц вблизи повреждения (Галактионов, 2005 [Galaktionov, 2005]). Кроме того, такая реакция уменьшает вероятность попадания в рану инфекции и облегчает последующее её заживление. Роль амебоцитов в заживлении ран показана для *L. terrestris* (Bilej *et al.*, 2010).

Первичная защита от патогенных микроорганизмов и других инородных частиц, попавших в организм червя — это их фагоцитоз иммунно-активными клетками, то есть, в первую очередь целомоцитами. Этот, по-видимому, очень древний защитный про-

цесс протекает практически одинаковым образом у разных групп многоклеточных животных. Стадии хемотаксиса и адгезии требуют присутствия определенных гуморальных факторов, осуществляющих распознавание чужеродных частиц. У кольчатых червей описаны несколько групп таких факторов – лектины, агглютинины и др. Судя по всему, амебоциты кольчатых червей, как и других беспозвоночных, продуцируют эти факторы самостоятельно. На терминальных стадиях фагоцитоза в амебоцитах вырабатываются активные формы кислорода, что является эффективным механизмом уничтожения поглощенных микроорганизмов (Dhainaut, Scaps, 2001; Галактионов, 2005 [Galaktionov, 2005]; Söderhäll, 2010). С подробным описанием известных гуморальных факторов олигохет можно ознакомиться в специализированных обзорах (Engelmann *et al.*, 2002, 2005; Gupta, Yadav, 2016).

Процесс фагоцитоза изучался на клетках дождевых червей как на модельном объекте, еще начиная с первых исследований Мечникова (Metchnikoff, 1893). Фагоцитарной активности целомоцитов олигохет посвящено достаточно много работ (Stein, Cooper, 1981; Shalev *et al.*, 1981; Roch *et al.*, 1983; Bilej *et al.*, 1990; Dales, Kalaç, 1992; Cooper, 1996; Adamowicz, Wojtaszek, 2001), однако большинство носит морфологический или описательный характер. Изучение конкретных физиологических механизмов осуществления фагоцитоза у олигохет велось не так активно. На данный момент известно, что у *L. terrestris* распознавание антигенов осуществляет субпопуляция негранулярных амебоцитов (то есть, «лейкоциты» или гиалиновые амебоциты). Эти клетки экспрессируют поверхностные маркеры Thy-1 (CD90) и бета-2-микроглобулин — оба типа молекул принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов.

Земляные черви используются как видоиндикаторы при оценке состояния окружающей среды, поэтому часть исследований сосредоточена на изучении реакции этих животных на различные загрязнения и токсины (Fugère *et al.*, 1996; Galloway, Depledge,

2001; Cooper, Roch, 2003; Calisi *et al.*, 2013). Объектом интереса этих исследований является общая реакция на разные виды стресса, и с этой точки зрения фагоцитарная активность амебоцитов выступает только как один из биомаркеров. Конкретным механизмам этого процесса в таких исследованиях внимания уделяется немного.

Инородные тела, размер которых превышает размер фагоцитирующих клеток, подвергаются процессу инкапсуляции. Инкапсуляция — принципиально важный защитный механизм. Этот процесс позволяет быстро изолировать крупные инородные тела, которые животное не может удалить из организма или разрушить, и ограничить их контакт с собственными тканями животного (Галактионов, 2005 [Galaktionov, 2005]). В естественных условиях процесс инкапсуляции особенно актуален при заражении животных паразитами, в частности многоклеточными.

Формирование капсулы заключается в агрегации целомоцитов вокруг чужеродных частиц. Это могут быть клетки бактерий, цисты паразитов (в частности, грегарин) или взрослые формы паразитов (например, нематод), а также поврежденные структуры самого организма — щетинки, мышечные фибриллы. За счет агрегации большего числа целомоцитов эти капсулы быстро увеличиваются в размере; в какой-то момент самый внешний слой клеток уплощается и перестает прикреплять новые целомоциты. В этот момент в клетках капсулы происходит накопление пигмента, и капсула приобретает более темный оттенок — поэтому некоторые исследователи называли такие капсулы «коричневыми тельцами» (Valembouis *et al.*, 1992, 1994; Stein, Cooper, 1983). По всей видимости, в капсулах происходит процесс катаболизма окисленных органических субстратов, в котором участвует метаболический каскад фенолоксидазы — фермента, ответственного за синтез меланиновых пигментов (Gupta, Yadav, 2016).

Формирование капсул вокруг паразитических нематод у *L. terrestris* описано Меч-

никовым (Metchnikoff, 1893). Капсулы вокруг нематод были исследованы на ультраструктурном уровне (Poinar, Hess, 1977). В них были выделены два слоя: внутренний неклеточный и внешний клеточный, содержащий как минимум четыре типа целоцитов, в том числе гранулярные и негранулярные амебоциты. Кэмерон (Cameron, 1932) наблюдал формирование капсул вокруг хлопковых нитей, экспериментально внедренных в полость тела люмбрицид. Согласно этому описанию, экспериментальные капсулы частично кальцинировались на седьмой день после начала инкапсуляции.

Обычные для *L. terrestris* паразиты — споровики рода *Monocystis* Stein, 1848. В эксперименте показано, что контакт инцистированных стадий паразита с целоцитами *in vitro* вызывает реакцию инкапсуляции. Гранулы в цитоплазме целоцитов растворяются (происходит т.н. «дегрануляция»), при этом в клетках отмечается повышение концентрации ферментов, в первую очередь, кислых фосфатаз. На паразитов родов *Giardia* Künstler, 1882 и *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907, которые в естественных условиях не встречаются у этого вида червей, реакция целоцитов в эксперименте оказалась гораздо менее выраженной (Reinhart, Dollahon, 2003).

Инцистированные стадии грегариин также подвергаются инкапсуляции. При этом зрелые трофозоиты каким-то образом сопротивляются иммунному ответу хозяина — вокруг них капсулы не формируются (Stephenson, 1930).

Хотя широкая встречаемость целомических паразитов хорошо известна для олигохет, конкретной информации о взаимоотношениях паразит–хозяин с точки зрения клеточных иммунных реакций в литературе немного.

Элеоциты олигохет также представляют собой гетерогенную группу клеток. Роса (Rosa, 1896) ввел термин «элеоцит» для описания клеток, содержащих в цитоплазме крупные липидные капли. В более поздних работах для описания этого типа клеток так-

же использовались термины «хлорогоциты» (или хлорогенные клетки), «эргастопластические хлорогоциты». Вполне вероятно, что эти термины употреблялись по отношению к разным стадиям дифференциации одной клеточной линии. Некоторые авторы называли хлорогенными клетками элеоциты, прикрепленные к целомической выстилке кишечника, которые после открепляются и становятся свободными элеоцитами (Jamieson, 1981; Jamieson, 1992; Affar *et al.*, 1998; Vetvicka, Sima, 2009).

Морфология элеоцитов может варьировать от овальных до округлых или продолговатых клеток с диаметром в диапазоне от 10 до 60 мкм. Большинство элеоцитов имеют в цитоплазме сферические гранулы и хлорогосомы — вакуоли, накапливающие различные вещества, в том числе липиды и полисахариды. Эти клетки отмечены у всех видов олигохет, изученных с этой точки зрения. В литературе практически не встречается расхождений при определении элеоцитов как отдельного типа целоцитов. Разделение элеоцитов на подтипы обычно основано на размерных характеристиках и составе включений.

Элеоциты олигохет, как и амебоциты, дифференцируются из специализированных участков целомического эпителия (Jamieson, 1992; Affar *et al.*, 1998). Для люмбрицид показано, что источником элеоцитов в первую очередь являются целомическая выстилка вокруг кишечника (т.н. хлорогенная ткань) и выстилка крупных кровеносных сосудов (рис. 3В), тогда как пул амебоцитов берет начало в участках целотелия стенки тела (париетального целотелия) и диссипиентов (Stein, Cooper, 1983).

Элеоциты играют роль в питании, выделении и поддержании осмотического баланса. Они участвуют в поддержании нормального уровня pH и баланса ионов в целомической жидкости (Prento, 1979; Affar *et al.*, 1998). Элеоциты синтезируют внеклеточные дыхательные пигменты (Needham, 1966; Roots, Johnston, 1966; Fischer, 1977), накапливают вещества эндогенного происхожде-

ния, такие, как липиды, гликоген и в некоторых случаях мукополисахариды (Spicer, 1960; Roots, Johnston, 1966; Ireland, Richards, 1977), и экзогенные вещества, такие, как пигменты (Roots, Johnston, 1966; Needham, 1966) или металлы (Prento, 1979).

Защитная роль элоцитов изучена слабо, и, по всей видимости, является весьма ограниченной. Эти клетки часто остаются неактивными в присутствии бактерий или других частиц (Dales, Kalaz, 1992). Однако их поведение различается у разных видов: например, у представителей рода *Eisenia* они проявляют фагоцитарную активность, а у *Lumbricus* — нет. Основная роль элоцитов в иммунных реакциях заключается в синтезе некоторых антимикробных факторов (Valembouis *et al.*, 1982; Ville *et al.*, 1995; Milochau *et al.*, 1997), а также частичном участии в процессе инкапсуляции (Stein, Cooper, 1983; Valembouis *et al.*, 1992, 1994). Кроме того, элоциты осуществляют детоксикацию организма, работая как «почки накопления» и изолируя токсичные вещества от остального организма (Cholewa *et al.*, 2006; Lionetto *et al.*, 2012).

Polychaeta

Амебоциты представляют самую большую и разнообразную субпопуляцию целомоцитов полихет. Судя по всему, этот тип клеток присутствует у всех видов полихет, изученных с этой точки зрения. У большей части видов они составляют основную часть популяции целомоцитов, а у некоторых видов их количество относительно невелико. Из всех изученных видов только у *Sabellaria spinulosa* (Leuckart, 1849) амебоциты вообще не были отмечены (Dehorne, 1930). В одном из первых масштабных обзоров (Dales, Dixon, 1981) тип амебоцитов описывается как «относительно небольшие, слабо дифференцированные потенциально фагоцитирующие клетки». Однако морфологические черты этого типа клеток сильно различаются у представителей разных семейств полихет.

Так, обычным типом амебоцитов являются веретенновидные клетки с центрально расположенным овальным ядром и с пучками филаментов в цитоплазме. Веретенновидные амебоциты, содержащие небольшие пучки фибрилл, также встречаются в ранних описаниях целомоцитов *Perinereis cultifera* (Grube, 1840) (Romieu, 1921). Дэорн (Dehorne, 1925) описывал наличие фибрилл вокруг ядра у *Glycera convoluta* Keferstein, 1862 и *Nephtys* sp. и называл это явление «линомом», а сами клетки — «линоцитами».

Разными авторами начала XX столетия неоднократно описывались амебоциты разного размера круглой, овальной или даже звездчатой формы у представителей различных семейств полихет: у терребелиды *Eupolytnia nebulosa* Montagu, 1819 (Picton, 1898), цирратулиды *Dodecaceria concharum* Örsted, 1843 (Caullery, Mesnil, 1898), nereиды *Perinereis marioni* (Audouin et Milne Edwards, 1833) (Herpin, 1921) и афродитиды *Aphrodite aculeata* Linnaeus, 1758 (Fordham, 1925). Эти амебоциты, как правило, имеют относительно небольшой размер (5–20 мкм), образуют псевдоподии и частично способны к фагоцитозу, например, как у *Perinereis macropus* (Claparède, 1870) (Sichel, 1964), *Amphitrite johnstoni* Malmgren, 1865, *Neoamphitrite figulus* (Dalyell, 1853) (Dales, 1964) и *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766) (Marsden, 1966). Цитоплазма этих клеток по данным авторов может быть эозинофильной с базофильными гранулами, гиалиновой, нейтрально окрашивающейся и т.д.

Для представителей семейства Nereidae амебоциты были описаны как «гранулоциты» из-за наличия в цитоплазме оптически плотных гранул (Baskin, 1974). Позднее термин «гранулоциты» стали употреблять и по отношению к целомоцитам представителей других семейств.

Амебоциты (гранулоциты) представляют гетерогенную популяцию клеток, внутри которой в свою очередь можно выделить несколько подтипов. По предложенной для nereид классификации таких подтипов пять, они различаются такими морфологическими признаками, как форма клетки, наличие

Таблица 2. Классификация целомоцитов полихет (по Dhainaut, Porchet-Henneré, 1988).
Table 2. Classification of Polychaeta coelomocytes (based on Dhainaut, Porchet-Henneré, 1988).

Тип клеток Cell type	Морфологические признаки Morphological features	Встречается у представителей семейств Known in representatives of families
Амебоцит (гранулоцит) типа I Type I amoebocyte (granulocyte)	Клетки веретеновидной формы с большим количеством гранул и пучками микрофиламентов в цитоплазме Spindle-shaped cells with plenty of granules and clusters of filaments in cytoplasm	Arenicolidae, Ophelidae, Glyceridae, Nephtyidae, Nereidae
Амебоцит (гранулоцит) типа II Type II amoebocyte (granulocyte)	Клетки вытянутой формы, в цитоплазме есть гранулы и вакуоли, но нет пучков филаментов Elongated cells, cytoplasm contains granules and vacuoles, but not clusters of filaments	Arenicolidae, Nereidae, Terebellidae, Capitellidae
Амебоцит (гранулоцит) типа III Type III amoebocyte (granulocyte)	Клетки маленького размера, с крупным ядром и небольшим количеством гранул Small cells with large nucleus and a little number of granules	Во многих семействах. Возможно, клетка-предшественник In many families. Possible precursor cell
Амебоцит (гранулоцит) типа IV Type IV amoebocyte (granulocyte)	Типичный макрофаг Typical macrophage	Описан для Nereidae, встречается у иммунизированных особей Described in Nereidae
Амебоцит (гранулоцит) типа V Type V amoebocyte (granulocyte)	В цитоплазме имеются крупные включения и стопки шероховатого ЭПР Large inclusions and piles of rough endoplasmic reticulum in cytoplasm	Во многих семействах In many families
Элеоцит Eleocyte	Содержат одну или несколько крупных вакуолей и запас липидов и гликогена Contain one or several large vacuoles and reserves of lipids and glycogen	Не обнаружены у представителей Arenicolidae, Glyceridae, Nephtyidae и Syllidae Absent in representatives of Arenicolidae, Glyceridae, Nephtyidae and Syllidae families

вакуолей и филаментов, размер гранул (табл. 2; рис. 4). Для представителей других семейств таких классификаций не существует. У одних и тех же видов полихет разными авторами выделялись разные типы амебоцитов. Поскольку в этих описаниях использованы различные методики и подходы к классификации клеток, произвести обобщение

на уровне семейства не представляется возможным. Таким образом, единственной относительно общей классификацией амебоцитов полихет остается предложенная для нереид. Однако даже в рамках этой классификации отмечаются клетки «переходных» или «смешанных» форм, сочетающие в своей морфологии черты двух или более типов.

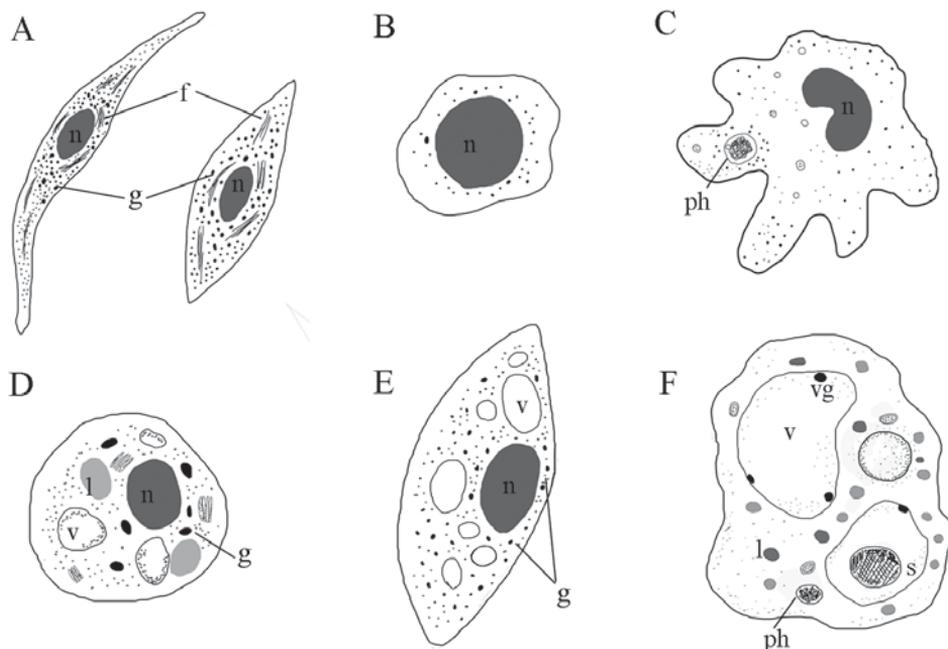


Рис. 4. Типы целомоцитов полихет (по Baskin, 1974; Dhainaut, Porchet-Henneré, 1988). А — амебоцит (гранулоцит) типа I; В — амебоцит (гранулоцит) типа II; С — амебоцит (гранулоцит) типа III; D — амебоцит (гранулоцит) типа IV; E — амебоцит (гранулоцит) типа V; F — элеоцит.

Обозначения: f — филаменты; l — липидные капли; n — ядро; ph — фагосомы; s — поглощенный сарколит; v — вакуоль; vg — электронно-плотные глобулы на мембране вакуоли. Черными точками разного размера отмечены гранулы в цитоплазме.

Fig. 4. Types of Polychaeta coelomocytes (based on Baskin, 1974; Dhainaut, Porchet-Henneré, 1988). A — type I amoebocyte (granulocyte); B — type II amoebocyte (granulocyte); C — type III amoebocyte (granulocyte); D — type IV amoebocyte (granulocyte); E — type V amoebocyte (granulocyte); F — eleocyte.

Abbreviations: f — filaments; l — lipid drops; n — nucleus; ph — phagosomes; s — absorbed sarcolite; v — vacuole; vg — electron-dense globules on the membrane of vacuole. Black spots of different size mark granules in cytoplasm.

Некоторыми авторами был отмечен процесс быстрого перехода одного морфологического типа клеток в другой, например, в случае экспериментальной иммунизации животного — из неактивного веретеновидного состояния в активную амeboидную форму. У *Clymenella torquata* (Leidy, 1855) и *Euclymene oerstedii* (Claparède, 1863) этот процесс начинается с появления базофильных гранул вдоль фибрилл в веретеновидных клетках (Pilgrim, 1965).

Для некоторых видов полихет как отдельный тип описаны негранулярные амeboциты. Для *Nicolea zostericola* Örsted, 1844 описано два типа амeboцитов, в которых на

ультраструктурном уровне не выявляются гранулы (Eckelbarger, 1976). Для *Arenicola marina* таких типов описано три, однако автор отмечает, что с большой вероятностью эти клетки представляют собой более ранние стадии дифференциации гранулярных целомоцитов: со сменой физиологического статуса в них могут появляться и накапливаться гранулы. Распределение клеток с гранулами зависит от возраста и пола животного, а также коррелирует со стадией созревания половых продуктов (Persinina, Chaga, 1994).

Таким образом, вопрос о взаимоотношениях выделенных на основе морфологии типов клеток остается открытым.

По всей видимости, так же, как и в случае олигохет, пул амебоцитов (гранулоцитов) берет начало в видоизмененных участках целомического эпителия в разных частях организма полихет (рис. 3).

Для представителей Sabellidae как предположительный источник пула гранулоцитов описаны вытянутые отростки нефридиев (Sima, 1994). У представителей рода *Aphrodite* Linnaeus, 1758 описаны «лимфоидные железы» — разрастания целомической выстилки сосудов (Fordham, 1925). У *Glycera* sp. в качестве участков, продуцирующих гранулоциты, описаны отдельные участки целомического эпителия стенки тела (париетального целотелия) (Sima, 1994). В аггломератах мезенхимальной ткани вокруг сосудов и нефридиев у нереид также предположительно происходит пролиферация амебоцитов или их предшественников (Dehorne, 1922). На гистологическом уровне процесс пролиферации амебоцитов из целомического эпителия стенки тела показан для *N. zostericola* (Eckelbarger, 1976), в остальных случаях о происхождении этих клеток только высказываются предположения.

Гранулоциты (амебоциты) полихет принимают наиболее активное участие в клеточных защитных реакциях. Они осуществляют фагоцитоз, инкапсуляцию, а также участвуют в устранении повреждений тканей (Vetvicka, Sima, 2009).

В литературных данных нет однозначного ответа на вопрос, все ли типы инородных тел у полихет подвергаются инкапсуляции. Ксеногенные объекты биологической природы, как правило, подвергаются инкапсуляции и разрушаются. С помощью экспериментов на представителях рода *Nereis* Linnaeus, 1758 показано, что инкапсуляции подвергаются биологические мишени, в том числе собственные поврежденные ооциты и щетинки (Thomas, 1930). Деградировавшие ткани достаточно быстро разрушаются на более мелкие частицы и в итоге полностью лизируются. Искусственно внедренные в ходе эксперимента инородные мишени абиотической природы не всегда оказываются

инкапсулированными. Так, используемые в качестве абиотического трансплантата латексные шарики у *Nereis diversicolor* (O.F. Müller, 1776) подвергаются инкапсуляции, как любой органический материал. В то же время, пластиковые шарики, видимо, в силу своей инертной природы, у этого вида полихет не вызывают выраженной защитной реакции (Porchet-Henneré *et al.*, 1987). Для других представителей полихет таких данных не существует.

Также для *N. diversicolor* в эксперименте показано, что в присутствии инородного тела у окружающих его клеток в вакуолях и аппарате Гольджи наблюдается активность феноксидазы. Отмечено, что в цитоплазме только одного типа клеток (гранулоциты типа II по классификации Baskin, 1974) содержится предшественник этого фермента (Porchet-Henneré, Vernet, 1992). Процесс инкапсуляции для *N. diversicolor* описан также на уровне ультраструктуры (Porchet-Henneré *et al.*, 1987). Кроме того, с помощью моноклональных антител показано, что у этого вида гранулоциты III типа выполняют функцию распознавания чужеродного материала, а гранулоциты I и II типов формируют капсулу (Porchet-Henneré, 1990).

Процесс инкапсуляции паразитов у полихет различается в зависимости от типа паразита и видовой принадлежности хозяина. Исследования реакции организма полихет на многоклеточных паразитов немногочисленны. Факт инкапсуляции церкарий трематод отмечен у представителей рода *Poecilochaetus* Claparède in Ehlers, 1875 (Dales, Dixon, 1981) и у *N. diversicolor* (Vivier, Henneré, 1964). Для *Serpula penicillus* Linnaeus, 1758 и *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791) описан факт инкапсуляции паразитических копепод (Dales, Dixon, 1981).

Для полихет обычными полостными паразитами являются простейшие — грегарины и кокцидии. В ранних работах встречаются указания на способность таких паразитов сопротивляться иммунному ответу хозяина. Согласно этим описаниям, живые трофозоиты и зрелые цисты кокцидий и грегарины

рин (неуточненной видовой принадлежности) не подвергаются инкапсуляции (Caullery, Mesnil, 1898; Siedlecki, 1903).

Для паразитирующей в *N. diversicolor* кокцидии *Coelotropha durchoni* Vivier et Henneré, 1964 показано, что спорозоиты внутри спороцисты остаются живыми, если спороциста подвергается инкапсуляции (Vivier, Henneré, 1964; Porchet-Henneré, Berri, 1987).

Вышедшие из спороцисты спорозоиты проникают в клетки хозяина (элециты, мышечные клетки, эпителиальные клетки). После внутриклеточного периода роста клетки хозяина разрываются, и в полость целома выходят вегетативные стадии кокцидии. На этом этапе клетки *C. durchoni* становятся крупнее окружающих целомоцитов и могут быть подвержены реакции инкапсуляции. Механизм защиты от иммунного ответа хозяина заключается в формировании вокруг паразита плотной оболочки, состоящей из двух слоев внеклеточного вещества различного состава. Внутри этой оболочки паразит достигает половой зрелости. Оболочка вокруг зрелых гамонтов разрушается, они выходят в целом и после оплодотворения инцистируются. Если женский гамонт остался неоплодотворенным, он окружается гранулоцитами и подвергается инкапсуляции.

Судя по всему, защитная оболочка вокруг вегетативных стадий паразита синтезируется клетками хозяина и поэтому не распознается его иммунной системой как чужеродный объект. Авторы предполагают, что на внутриклеточной стадии развития паразит адсорбирует определенные белки, принадлежащие хозяину. При выходе в целом эти маркеры привлекают окружающие целомоциты и инициируют образование ими оболочки, при этом не вызывая реакции инкапсуляции (Porchet-Henneré, Dugimont, 1992).

Принцип этого защитного механизма, вероятно, сходен с описанным для многоклеточных паразитов беспозвоночных животных. В частности, для трематод из группы Plagiorchiida, паразитирующих в мол-

люсках, известно явление формирования протективной «мантии», состоящей из клеток хозяина и защищающей паразита от иммунных атак (Galaktionov, Dobrovolskij, 2013).

Элециты — вторая по значимости популяция клеток в целоме полихет. Впервые элециты были описаны для олигохет (Rosa, 1896), позднее этот термин стал использоваться и для полихет. Хотя элециты описаны у представителей двух подклассов полихет — Errantia и Sedentaria, они не обнаружены у представителей семейств Arenicolidae, Glyceridae, Nephtyidae и Syllidae (Sima, 1994; Vetricka, Sima, 2009). У представителей других изученных семейств (Nereidae, Terebellidae, Aphroditidae, Phyllodocidae и др.) элеоциты — самый часто встречаемый тип клеток в целомической жидкости. Это хорошо различимые, относительно крупные (около 40 мкм в диаметре) клетки неопределенной формы. Они содержат одну или несколько крупных вакуолей и запас липидов и гликогена. В литературе они часто описываются как негранулярные лимфоциты или трефоциты (Sima, 1994).

Относительно цитогенеза элеоцитов существует несколько точек зрения. Некоторые авторы предполагают, что они развиваются из амебоцитов после того, как последние активно фагоцитируют какой-то материал (Romieu, 1923; Dales, Dixon, 1981). У представителей семейства Terebellidae источником элеоцитов, возможно, служит соматический париетальный эпителий целома грудных и абдоминальных сегментов (Eckelbarger, 1976). Для Nereidae показано происхождение элеоцитов из целомического эпителия, покрывающего кровеносные сосуды в параподиях (Dhainaut, 1966). У *Perinereis cultrifera* описаны скопления элеоцитов вокруг кровеносных сосудов, которым авторы дали название «гемопоэтической ткани» (Lunetta-D'Ancona, Russo, 1983). Авторы высказали предположение, что целомическая полость может обмениваться клетками с кровеносной системой. Это предположение имеет право на существование

до тех пор, пока не ясна физиологическая роль разных типов клеток целомической жидкости.

Функции элеоцитов полихет изучены менее подробно, чем функции элеоцитов олигохет. По всей видимости, роль элеоцитов в основном трофическая, а не защитная. Элеоциты часто бывают ассоциированы с созревающими ооцитами — видимо, они участвуют в обеспечении растущих яйцеклеток питательными веществами. У некоторых нереид во время полового созревания элеоциты самок претерпевают морфофункциональную трансформацию, накапливая запасные вещества (Sima, 1994). Поскольку у мужских особей этого процесса не происходит, это позволяет предположить, что элеоциты могут быть вовлечены в процесс вителлогенеза. Для *Nereis diversicolor* с помощью моноклональных антител к вителлогенину показано, что вителлогенин (то есть, предшественник белков, составляющих желток ооцитов) содержится только в элеоцитах и ни в каких других типах целомоцитов (Bonnier *et al.*, 1991). Синтез вителлогенина в элеоцитах показан также для *Nereis virens* M. Sars, 1835 (García-Alonso *et al.*, 2005).

Вакуоли элеоцитов нереид иногда содержат мышечные фибриллы, находящиеся на разных стадиях переваривания (Dhainaut, 1966; Schroeder, 1967). Существует предположение, что эти клетки вовлечены в фагоцитоз свободных фибрилл — сарколитов, которые в норме присутствуют в целомической жидкости. Видимо, сарколиты отделяются от мускулатуры стенки тела, которая подвергается гистолизу в течение поздних стадий репродуктивного созревания гамет (Defretin, 1949). Накопленные запасные вещества элеоцитов в последствии также используются ооцитами (Dhainaut, 1966). Таким образом, устранение остатков поврежденной ткани в данном случае является не столько защитной, сколько трофической опцией (Dhainaut, Porchet-Henneré, 1988). Интересно, что элеоциты действуют как макрофаги и избирательно поглощают только отдельные сарколиты, не трогая другие клет-

ки. Скорее всего, их иммунная функция сильно ограничена.

Третий клеточный тип составляют гемоглобин-содержащие клетки, названные эритроцитами. Они найдены у представителей семейств Capitellidae, Cirratulidae, Glyceridae и Opheliidae и обнаруживаются исключительно в целомической полости (Goodrich, 1898). Показано, что эритроциты представителей этих семейств способны к активному фагоцитозу. В отличие от элеоцитов, они фагоцитируют в основном чужеродный материал и делают это не избирательно. Но защитная функция, судя по всему, для них тоже не является основной. Цитогенез этих клеток неизвестен и с большой вероятностью значительно различается у разных видов полихет (Vetvicka, Sima, 2009).

Для представителей семейств Sabellidae, Terebellidae и Arenicolidae показано, что клетки целомической выстилки сосудов синтезируют и накапливают гемоглобин, который после проникает через базальную пластинку в полость сосуда (Dales, Pell, 1970). Однако эти клетки не выходят в целомическую полость и связаны непосредственно с кровеносной системой. Клеточные элементы крови в описанных случаях не связаны с синтезом гемоглобина, и их функция неясна.

В существующих описаниях эритроцитов присутствует некоторая терминологическая неопределенность: гемоглобин-содержащие клетки могут называться гемоцитами, красными целомоцитами, клетками крови. Остается неясным, имеют ли отношение эти описанные типы клеток к кровеносной системе или к целому. Кроме того, термин «гемопозз» часто употребляется в значении «цитогенез гемоцитов (клеток крови)», но в некоторых случаях авторы описывают этим термином непосредственно функцию синтеза гемоглобина определенными клетками (Dales, Dixon, 1981; Lunetta-D'Ancona, Russo, 1983).

Выделение эритроцитов в качестве отдельного типа целомоцитов полихет при существующей отрывочности данных и отсутствии четко определенных терминов представляется спорным.

Таким образом, в пределах группы полихет морфология и функциональная нагрузка целомоцитов одного типа может значительно различаться у представителей разных семейств. Вопрос о взаимоотношениях разных клеточных линий в пределах популяции целомоцитов до сих пор не решен, как и вопрос цитогенеза и дифференцировки этих линий. Важно отметить, что факт отличия состава клеток крови от целомоцитов все еще вызывает сомнения (Dales, Dixon, 1981; Vetvicka, Sima, 2009).

Hirudinea

Несмотря на то, что пиявки в целом сохраняют общий план строения всех кольчатых червей, приобретенные вследствие особенностей образа жизни модификации значительным образом отличают их от других представителей аннелид. Сложная связь различных систем органов затрудняет определение принадлежности некоторых клеточных компонентов к той или иной системе. Цитология пиявок долгое время не привлекала внимания исследователей, поэтому сведения о происхождении и функциях свободных клеток их полости тела на данный момент фрагментарны. С этой точки зрения изучено всего несколько видов пиявок.

Свободные клетки гемоцеля подразделяются, как правило, на амeboциты (также у пиявок их называют лейкоцитами или лимфоцитами) и хлорогагенные клетки (Vetvicka, Sima, 2009). Амeboциты пиявок обычно имеют относительно однородную морфологию и схожие размеры (Sawyer, Fitzgerald, 1981). Амeboциты могут находиться в полостной жидкости в свободном состоянии или могут быть прикреплены к стенке тела. Гипотезы происхождения амeboцитов пиявок, как правило, спекулятивные. Есть вероятность, что у некоторых видов *Glossiphoniidae* в продукции свободных целомических клеток играет роль ботридиальная ткань, выстилающая лакуны и сосуды (de Eguileor *et al.*, 2001).

Для пиявок показано активное участие амeboцитов в заживлении ран (de Eguileor *et*

al., 1999). У *Glossiphonia complanata* (Linnaeus, 1758) с помощью человеческих моноклональных антител выделили три функциональные субпопуляции амeboцитов — макрофаг-подобные, НК-подобные и гранулоциты (de Eguileor *et al.*, 2000). Они отличались морфологией и поведением в ответ на экспериментальные индукторы иммунного ответа. Макрофаг-подобные клетки подвижны и активно фагоцитировали бактерии, а также участвовали в процессе инкапсуляции и меланизации капсулы. НК-подобные клетки показывали литическую активность при плотном контакте мембраны с чужеродным материалом. Гранулоциты типа I, с мелкими гранулами округлой формы, в эксперименте реагировали на массовое заражение бактериями. При переходе в функциональное состояние у этих клеток происходила дегрануляция. По всей видимости, эти гранулы являются местом накопления антибактериальных факторов. В отличие от других аннелид, у пиявок нет обширной целомической полости, поэтому накопление активных веществ внутриклеточно более эффективно, чем накопление в плазме целомической жидкости. Гранулоциты типа II, с плотными гранулами неправильной формы, реагировали на присутствие крупных инородных тел. При попадании в полость тела пиявки паразитов (видов плоских червей, которые паразитируют в пиявках в естественных условиях) эти клетки реагировали дегрануляцией и окружали паразита плотным слоем.

Иммуноцитохимические и ультраструктурные методы продемонстрировали наличие трех основных типов целомоцитов у *Theromyzon tessulatum* (O.F. Müller, 1774): хлорогацитов, гранулярных и негранулярных амeboцитов (Lefebvre *et al.*, 2008).

Хлорогагенные клетки пиявок имеют различный размер. Их морфологические признаки сходны с таковыми элоцитов олигохет. По всей видимости, источником этого типа клеток являются определенные участки гемоцеломического эпителия (Oka, 1894). Также предположительно сайтом пролиферации хлорогацитов могут быть участки

целотелия, связанного с нефридиями (Abe-loos, 1925). Определенных данных о функциональности этих клеток нет.

Для *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758 описан отдельный тип клеток, встречающийся только в крови, но не в целомической жидкости. Эти клетки морфологически сходны с гиалиновыми амебоцитами олигохет. Они оказались иммунно-активны и участвовали в защитных реакциях: фагоцитировали бактерии, осуществляли синтез меланинового пигмента в присутствии инородных тел, продуцировали три типа антимикробных пептидов. Кроме того, клетки крови пиявки принимали активное участие в восстановлении поврежденных нервных волокон и регулировали процесс заживления с помощью синтеза нейротрофических факторов (Voldin-Wichlacz *et al.*, 2012). Судя по всему, у разных видов пиявок свободные клетки могут иметь отношение к разным тканям (Vetvicka, Sima, 2009).

Заключение

Информация о составе и функциях популяции целомочитов представителей разных групп аннелид неоднородна. Число выделяемых разными авторами типов целомочитов значительно варьирует даже в пределах одного семейства. Описания состава популяции целомочитов того или иного вида часто фрагментарны. Многие данные требуют обновления или подтверждения с помощью современных методов. В частности, данные о разнообразии гемоцитов, их функциональности и возможной связи с целомом отрывочны и практически не обновлялись с прошлого века.

На основании имеющейся информации можно выделить только два общих для разных представителей таксона аннелид морфофункциональных типа целомочитов: «амебоциты» и «элеоциты». Судя по всему, эти два термина являются наиболее универсальными из всех предложенных и могут быть употреблены при описании множества форм целомочитов в пределах разных групп аннелид (табл. 3).

Амебоциты представляют самую разнообразную группу клеток, внутри которой возможна максимально дифференцированная классификация на основании морфологических признаков. При этом вопрос взаимоотношений между выделенными типами амебоцитов остается открытым даже для отдельных видов.

Основная функция амебоцитов — участие в защитных реакциях: заживлении ран, фагоцитозе и инкапсуляции чужеродных объектов. У наиболее подробно изученных с этой точки зрения видов аннелид наблюдается тенденция разделения функциональной нагрузки между разными типами амебоцитов, однако у большинства видов связь функций и морфологии этих клеток недостаточно изучена.

Элеоциты разных представителей аннелид морфологически более сходны между собой. Скорее всего, внутренняя неоднородность этого типа клеток связана с присутствием в целомической жидкости разных стадий дифференциации одной клеточной линии.

Основными функциями элеоцитов являются трофическая, транспортная, накопительная. Судя по всему, защитная функция этих клеток ограничена и заключается в частичном участии в процессе инкапсуляции и синтезе некоторых антимикробных факторов.

Цитогенез обоих типов целомочитов связан, по всей видимости, со специализированными участками целомического эпителия. Интересно, что помимо общих для олигохет и полихет сайтов пролиферации целомочитов (рис. 3) исследователи отмечали и различные (табл. 4). Так, гистологическая общность элеоцитов с хлорогенной тканью представляется очевидной для олигохет, но не для полихет. В то же время предположение о дифференциации элеоцитов из фагоцитирующих амебоцитов высказывалось только в отношении полихет.

Целомочиты пиявок описываются по аналогии с целомочитами представителей других групп аннелид. Отмеченные у пиявок

Таблица 3. Универсальные для разных групп аннелид типы целомочитов.
Table 3. Universal types of coelomocytes within different Annelida groups.

Универсальный тип целомочитов Universal type of coelomocytes	Группа аннелид Annelida group	Названия возможных форм Names of possible forms	Морфологические признаки Morphological features	Описанные функции Described functions	Известен у представителей семейств Known in representatives of families
«Амебоцит» «Amoebocyte»	Oligochaeta	Гранулоцит, гиалиновый амебоцит, лимфоцит, лейкоцит, ацидофильный/ базофильный/ нейтрофильный амебоцит Granulocyte, hyaline amoebocyte, lymphocyte, leucocyte, acidophilic/basophilic/ neutrophilic amoebocyte	Как правило, образуют псевдоподии; прочие признаки крайне вариативны (размер и форма клетки/ядра, наличие/отсутствие гранул, филаментов, вакуолей; окрашивание гистологическими красителями и т.д.) Usually form pseudopodia; other features are extremely variable (size and shape of cell/nucleus, presence/absence of granules, filaments, vacuoles; staining with histological dyes, etc.)	Заживление ран, фагоцитоз, инкапсуляция, частичное участие в транспорте и накоплении питательных веществ Wound healing, phagocytosis, encapsulation, partial participation in transport and accumulation of nutrients	Lumbricidae Enchytraeidae
	Polychaeta	Гранулоцит, негранулярный амебоцит; название часто отражает форму клетки (веретеновидные, звездчатые амебоциты и т.д.) Granulocyte, agranular amoebocyte; name is often referenced to the cell's shape (spindle-shaped, star-shaped, etc.)	Самая большая и разнообразная группа целомочитов полихет, морфология варьирует в широких пределах. В общем случае образуют псевдоподии, но описаны и неподвижные формы The biggest and most diverse group of Polychaeta coelomocytes, morphology is highly variable. Usually form pseudopodia, but still forms are also described	Заживление ран, фагоцитоз, инкапсуляция Wound healing, phagocytosis, encapsulation	У всех изученных с этой точки зрения представителей разных семейств In all studied from this point of view representatives of different families

Таблица 3 (продолжение).
Table 3 (continued).

<p>Универсальный тип целомочитов Universal type of coelomocytes</p>	<p>Группа аннелид Annelida group</p>	<p>Названия возможных форм Names of possible forms</p>	<p>Морфологические признаки Morphological features</p>	<p>Описанные функции Described functions</p>	<p>Известен у представителей семейств Known in representatives of families</p>
<p>«Амебоцит» “Amoebocyte”</p>	<p>Hirudinea</p>	<p>Лейкоцит, лимфоцит Leucocyte, lymphocyte</p>	<p>Относительно однородная группа клеток, сходных по морфологии с гиалиновыми (базофильными) амебоцитами олигохет Relatively homogeneous group of cells, similar in morphology with hyaline (basophilic) amoebocytes of Oligochaeta</p>	<p>Заживление ран, фагоцитоз, инкапсуляция, накопление антимикробных факторов (возможно) Wound healing, phagocytosis, encapsulation, accumulation of antimicrobial factors (possibly)</p>	<p>Hirudinidae Glossiphoniidae</p>
<p>«Элеоцит» “Eleocyte”</p>	<p>Oligochaeta</p>	<p>Хлорогоцит (хлорогенная клетка), эргастопластический хлорогоцит Chloragocyte (chloragogen cell), ergastoplasmic chloragocyte</p>	<p>Овальные/округлые клетки диаметром 10–60 мкм, в цитоплазме имеются сферические гранулы, хлорогосомы, липидные капли Oval/rounded cells 10–60 μm in diameter, with spherical granules, chloragosomes and lipid drops in cytoplasm</p>	<p>Участие в выделении и поддержании осмотического баланса; синтез внеклеточных дыхательных пигментов; накопление липидов, гликогена, экзогенных веществ; синтез некоторых антимикробных факторов, частичное участие в процессе инкапсуляции Participation in excretion and osmotic balance maintaining; synthesis of extracellular respiratory pigments; accumulation of lipids, glycogen, exogenous substances; synthesis of certain antimicrobial factors; partial participation in process of encapsulation</p>	<p>У всех изученных с этой точки зрения представителей разных семейств In all studied from this point of view representatives of different families</p>

Таблица 3 (продолжение).
Table 3 (continued).

Универсальный тип целомочитов Universal type of coelomocytes	Группа аннелид Annelida group	Названия возможных форм Names of possible forms	Морфологические признаки Morphological features	Описанные функции Described functions	Известен у представителей семейств Known in representatives of families
«Элеоцит» “Eleocyte”	Polychaeta	Негранулярный лимфоцит, трефоцит Agranular lymphocyte, trephocyte	Относительно крупные (до 40 мкм в диаметре) клетки неопределенной формы, содержат вакуоли, липидные капли, запасы гликогена Relatively large (to 40 µm in diameter) cells of indefinite shape, contain vacuoles, lipid drops, glycogen reserves	Накопление липидов и гликогена; участие в процессе вителлогенеза и питании созревающих гамет; избирательный фагоцитоз Accumulation of lipids and glycogen; participation in process of vitellogenesis and nutrition of mature gametes; selective phagocytosis	Nereidae, Terebellidae, Aphroditidae, Phyllodoctidae
	Hirudinea	Хлорогенная клетка Chloragogen cell	Сходны по морфологии с элеоцитами олигохет Morphologically similar to eleocytes of Oligochaeta	Не описаны (но, по всей видимости, сходны с таковыми у других групп) Not described (but appear to be similar to functions of eleocytes of other groups)	Glossiphoniidae

Ссылки на конкретные исследования см. в тексте.
References can be found in text.

Таблица 4. Возможные сайты пролиферации универсальных типов целомочитов.
Table 4. Possible sites of proliferation for the universal types of coelomocytes.

Универсальный тип целомочитов Universal type of coelomocytes	Сайт пролиферации Site of proliferation	Oligochaeta	Polychaeta	Hirudinea
«Амебоцит» “Amoebocyte”	Париетальный эпителий (рис. 3А) Parietal epithelium (Fig. 3A)	Lumbricidae (Stein, Cooper, 1983; Bilej <i>et al.</i> , 1992; Homa <i>et al.</i> , 2008)	<i>Nicolea zostericola</i> (Eckelbarger, 1976) <i>Glycera</i> sp. (Sima, 1994)	–
	Участки целоветлия, окружающего кровеносные сосуды («лимфондные железы») (рис. 3В) Sites of coelomic epithelium around blood vessels (“lymphoid glands”) (Fig. 3B)	<i>Lumbricillus</i> , <i>Sparganophilus</i> , <i>Maoridrilus</i> , <i>Pheretima</i> , <i>Pontodrilus</i> (Sima, 1994)	Nereidae (Dehorne, 1922)	–
	Участки целоветлия диссипиментов (рис. 3С) Sites of coelomic epithelium of septa (Fig. 3C)	<i>Eisenia foetida</i> , другие Lumbricidae (Burke, 1974; Stein, Cooper, 1983; Bilej <i>et al.</i> , 1992; Homa <i>et al.</i> , 2008)	–	–
	Участки целоветлия вокруг нефридиев (рис. 3D) Sites of coelomic epithelium around nephridia (Fig. 3D)	<i>Dendrobaena veneta</i> (Olchawa <i>et al.</i> , 2006; Homa <i>et al.</i> , 2008)	Nereidae (Dehorne, 1922)	–
«Элеоцит» “Eloocyte”	Участки целоветлия вокруг кишечника (хлорогенная ткань) Sites of coelomic epithelium around intestine (chloragogenic tissue)	<i>Dendrobaena veneta</i> (Olchawa <i>et al.</i> , 2006; Homa <i>et al.</i> , 2008)	–	–
	Ботридияльная ткань Botryoidal tissue	–	–	Glossiphoniidae (de Equileor <i>et al.</i> , 2001)
	Париетальный эпителий (рис. 3А) Parietal epithelium (Fig. 3A)	–	Terebellidae (Eckelbarger, 1976) Локализация в грудных и абдоминальных сегментах Localization in thoracic and abdominal segments	–

Таблица 4 (продолжение).
Table 4 (continued).

Универсальный тип целоцитов Universal type of coelomocytes	Сайт пролиферации Site of proliferation	Oligochaeta	Polychaeta	Hirudinea
	Участки целотелия, окружающего кровеносные сосуды («лимфонидные железы») (рис. 3B) Sites of coelomic epithelium around blood vessels ("lymphoid glands") (Fig. 3B)	—	Nereidae (Dhainaut, 1966) Отмечены скопления элеоцитов вокруг крупных кровеносных сосудов в параподиях Clusters of eleocytes around large vessels in parapodia were marked	Предположительно Probably (Ока, 1894)
«Элеоцит» "Eleocyte"	Участки целотелия вокруг нефридиев (рис. 3D) Sites of coelomic epithelium around nephridia (Fig. 3D)	Lumbricidae (Stein, Cooper, 1983; Jamieson, 1992; Affar <i>et al.</i> , 1998)	Sabellidae (Sima, 1994)	Предположительно Probably (Abeloos, 1925)
	Участки целотелия вокруг кишечника (хлорагенная ткань) Sites of coelomic epithelium around intestine (chloragogenic tissue)	Lumbricidae (Stein, Cooper, 1983; Jamieson, 1992; Affar <i>et al.</i> , 1998)	—	—
	Метаморфоз амебоцитов после активного фагоцитоза Metamorphosis of amoebocytes after active phagocytosis	—	Предположительно возможен Is presumably possible (Romieu, 1923; Dales, Dixon, 1981)	—

“—” означает, что информация отсутствует.
“—” means that information absent.

амебоциты и элеоциты (хлорагоциты) морфологически схожи с аналогичными типами клеток олигохет. Однако информации о сходстве или различии в функциональности целомоцитов пиявок и олигохет, очевидно, недостаточно. Сложная связь различных систем органов пиявок также затрудняет определение принадлежности некоторых клеточных компонентов к той или иной системе. В целом пиявки остаются наименее изученной в этом отношении группой аннелид.

В данном обзоре практически не затронута тема гуморальных факторов иммунитета аннелид, тогда как большая часть этих факторов синтезируется непосредственно целомоцитами. На сегодняшний день большое внимание уделяется изучению молекулярных механизмов иммунных реакций, подобные работы проводятся в том числе и на представителях аннелид (см., напр.: Dhainaut, Scaps, 2001; Cooper *et al.*, 2002; Cooper, Roch, 2003; Salzet *et al.*, 2006; Kauschke *et al.*, 2007; Bilej *et al.*, 2010). Современные исследования целомоцитов аннелид направлены в первую очередь на изучение структуры и функций конкретных белков, в частности, антимикробных пептидов (например, ареницинов — Maltzeva *et al.*, 2014, 2016). В таких исследованиях практически не уделяется внимания морфологии и классификации целомоцитов.

В XX веке проводились систематические исследования, описывающие связь морфологии разных типов целомоцитов с их функциями. К сожалению, такие данные доступны только для нескольких видов, что не позволяет делать масштабных сравнительных выводов. В современной науке все больше внимания уделяется изучению конкретных процессов на молекулярном уровне: в качестве модельных объектов используются виды, раньше бывшие объектами морфологических работ. Работы, сочетающие разные подходы к исследованию иммунных систем аннелид и других беспозвоночных животных, на сегодняшний день крайне редки.

Для получения более полной и подробной картины разнообразия и функций целомоцитов необходимо изучать новые виды аннелид, используя различные современные методы. Имеющейся информации недостаточно, чтобы выдвигать какие-либо сравнительно-физиологические и тем более эволюционные гипотезы, объясняющие таксон-специфичные особенности гистогенеза целомической жидкости аннелид.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю И.А. Косевичу за поддержку при работе над статьей, а также рецензентам рукописи за ценные замечания, позволившие повысить качество обзора.

Литература

- Abeloos M. 1925. Recherches histochemique et physiologiques sur le parenchyme et les nephridies des Huridinee Rhynchobdelles // Bulletin biologique de la France et de la Belgique. Vol.59. P.436–456.
- Adamowicz A. 2005. Morphology and ultrastructure of the earthworm *Dendrobaena veneta* (Lumbricidae) coelomocytes // Tissue and Cell. Vol.37. No.2. P.125–133.
- Adamowicz A., Wojtaszek J. 2001. Morphology and phagocytotic activity of coelomocytes in *Dendrobaena veneta* (Lumbricidae) // Zoologica Poloniae. Vol.1. No.46. P.1–4.
- Affar E.B., Dufour M., Poirier G.G., Nadeau D. 1998: Isolation, purification and partial characterization of chloragocytes from the earthworm species *Lumbricus terrestris* // Molecular and Cellular Biochemistry. Vol.185. P.123–133.
- Baskin D.G. 1974. The coelomocytes of nereid polychaetes // Contemporary Topics in Immunobiology. Springer US. P.55–64.
- Bilej M. 1994. Cellular defense mechanisms // V. Vetvic, P. Sima, E.L. Cooper, M. Bilej, P. Roch (eds.). Immunology of Annelids. Boca Raton: CRC Press. P.167–200.
- Bilej M., Procházková P., Šilerová M., Jusková R. 2010. Earthworm immunity // K. Söderhäll (ed.). Invertebrate immunity. Boston, MA: Springer. P.66–79.
- Bilej M., Sima P., Slipka J. 1992. Repeated antigenic challenge induces earthworm coelomocyte proliferation // Immunology Letters. Vol.32. No.2. P.181–184.
- Boidin-Wichlacz C., Vergote D., Slomianny C., Jouy N., Salzet M., Tasiemski A. 2012. Morphological and functional characterization of leech circulating blood cells: role in immunity and neural repair // Cellular and Molecular Life Sciences. Vol.69. No.10. P.1717–1731.

- Bonnier P., Porchet-Henneré E., Baert J.L. 1991. Identification of the eleocytes as the vitellogenin producing cells in nereids // *Biology of the Cell*. Vol.73. No.273. P.179–181.
- Brinkhurst R.O., Jamieson B.G.M. 1971. *Aquatic Oligochaeta of the World*. University of Toronto Press. 860 p.
- Burke J.M. 1974. An ultrastructural analysis of the cuticle, epidermis and esophageal epithelium of *Eisenia foetida* (Oligochaeta) // *Journal of Morphology*. Vol.142. No.3. P.301–319.
- Calisi A., Lionetto M.G., Schettino T. 2009. Pollutant-induced alterations of granulocyte morphology in the earthworm *Eisenia foetida* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol.72. No.5. P.1369–1377.
- Calisi A., Zaccarelli N., Lionetto M.G., Schettino T. 2013. Integrated biomarker analysis in the earthworm *Lumbricus terrestris*: application to the monitoring of soil heavy metal pollution // *Chemosphere*. Vol.90. No.11. P.2637–2644.
- Cameron G.R. 1932. Inflammation in earthworms // *The Journal of Pathology & Bacteriology*. Vol.35. No.6. P.933–972.
- Cauillery M., Mesnil F.E.P. 1898. Les formes épiteques et l'évolution des cirratulien // *J. B. Bailliére*. No.39. P.1–200.
- Cholewa J., Feeney G.P., O'Reilly M., Stürzenbaum S.R., Morgan A.J., Plytycz B. 2006. Autofluorescence in eleocytes of some earthworm species // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. Vol.44. No.1. P.65–71.
- Cooper E.L., Roch P. 2003. Earthworm immunity: a model of immune competence // *Pedobiologia*. Vol.47. P.676–688.
- Cooper E.L. (ed.). 2018. *Advances in Comparative Immunology*. Springer. 1048 p.
- Cooper E.L. 1968. Transplantation immunity in annelids. I. Rejection of xenografts exchanged between *Lumbricus terrestris* and *Eisenia foetida* // *Transplantation*. Vol.6. P.322–337.
- Cooper E.L. 1969. Specific tissue graft rejection in earthworms // *Science*. Vol.166. P.1414–1415.
- Cooper E.L. 1996. Earthworm immunity // B. Rincevich, W.E.G. Müller (eds.). *Invertebrate Immunology*. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag. P.10–45.
- Cooper E.L., Kauschke E., Cossarizza A. 2002. Digging for innate immunity since Darwin and Metchnikoff // *BioEssays*. Vol.24. No.4. P.319–333.
- Cooper E.L., Roch P. 1994. Immunological profile of annelids: transplantation immunity // V. Větvicka, P. Sima, E.L. Cooper, M. Bilej, P. Roch (eds). *Immunology of Annelids*. Boca Raton: CRC Press. P.201–243.
- Dales R.P. 1964. The coelomocytes of the terebellid polychaete *Amphitrite johnstoni* // *Journal of Cell Science*. Vol.3. No.70. P.263–279.
- Dales R.P., Dixon L.R.J. 1981. *Polychaetes* // N.A. Ratcliffe, A.F. Rowley (eds). *Invertebrate blood cells*. London: Academic Press. P.35–74.
- Dales R.P., Kalaç Y. 1992. Phagocytic defence by the earthworm *Eisenia foetida* against certain pathogenic bacteria // *Comparative Biochemistry & Physiology*. Vol.101. No.3. P.487–490.
- Dales R.P., Pell J.S. 1970. Cytological aspects of haemoglobin and chlorocruorin synthesis in polychaete annelids // *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*. Bd.109. No.1. P.20–32.
- de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Congiu T., Protasoni M., Reguzzoni M., Lanzavecchia G. 2001. Ultrastructure and functional versatility of hirudinean botryoidal tissue // *Tissue and Cell*. Vol.33. No.4. P.332–341.
- de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Valvassori R., Cooper E.L., Lanzavecchia G. 2000. Different types of response to foreign antigens by leech leukocytes // *Tissue and Cell*. Vol.32. No.1. P.40–48.
- de Eguileor M., Tettamanti G., Grimaldi A., Boselli A., Scari G., Valvassori R., Cooper E.L., Lanzavecchia G. 1999. Histopathological Changes after Induced Injury in Leeches // *Journal of Invertebrate Pathology*. Vol.74. No.1. P.14–28.
- Defretin R. 1949. Recherches sur la musculature des Nérédiens au cours de l'épitoquie, sur les glandes parapodiales et sur la spermiogenèse // *Annales de l'Institut océanographique*. Vol.24. P.117–257.
- Dehorne A. 1922. Histolyse et phagocytose musculaire dans le coelome des Nérédiens a maturité sexuelle // *Comptes rendus de l'Académie des Sciences (Paris)*. Vol.164. P.1043–1063.
- Dehorne A. 1924. Multiplication asexuée chez *Dodecaceria* du Portel par émiettement métamérique ou processus de cténodrilisation // *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*. Vol.178. P.123–129.
- Dehorne A. 1925. Leucocytes et linome // *Comptes rendus des séances de la Société de biologie (Paris)*. Vol.93.
- Dehorne A. 1930. La formation plasmodiale et les kystes à mérozoïtes de *Sabellaria spinulosa* Leuck // *Comptes rendus des séances de la Société de biologie (Paris)*. Vol.104. P.647–50.
- Dhainaut A. 1966. Etude ultra structurale de l'évolution des eleocytes chez *Nereis pelagica* L. (Annelide Polychete) a l'approche de la maturité sexuelle // *Comptes rendus de l'Académie des Sciences (Paris)*. Ser.262. P.2740–2743.
- Dhainaut A., Porchet-Henneré E. 1988. Haemocytes and coelomocytes // *The Ultrastructure of Polychaeta. Microfauna Marina*. Vol.4. P.215–230.
- Dhainaut A., Scaps P. 2001. Immune defense and biological responses induced by toxins in Annelida // *Canadian Journal of Zoology*. Vol.79. No.2. P.233–253.
- Eckelbarger K.L. 1976. Origin and development of amoebocytes of *Nicola zostericola* (Polychaeta: Terebellidae) with a discussion of their possible role in oogenesis // *Marine Biology*. Vol.36. No.2. P.169–182.
- Engelmann P., Cooper E.L., Nemeth P. 2005. Anticipating innate immunity without a Toll // *Molecular Immunology*. Vol.42. No.8. P.931–942.
- Engelmann P., Pal J., Berki T., Cooper E.L., Németh P. 2002. Earthworm leukocytes react with different mammalian antigen specific monoclonal antibodies // *Zoology*. Vol.105. P.257–265.

- Envall I., Erséus C., Gustavsson L.M. 2008. Ultrastructural investigation of coelomocytes in representatives of Naidinae and Rhyacodrilinae (Annelida, Clitellata, Tubificidae) // *Journal of Morphology*. Vol.269. No.9. P.1157–1167.
- Fischer E. 1977. The function of chloragosomes, the specific age-pigment granule of Annelids: a review // *Experimental Gerontology*. Vol.12. P.69–74.
- Fischer E. 1993. The myelo-erythroid nature of the chloragogenous-like tissues of the annelids // *Comparative Biochemistry & Physiology*. Vol.106. P.449–453.
- Flajnik M.F., Du Pasquier L. 2004. Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line? // *Trends in Immunology*. Vol.25. No.12. P.640–644.
- Fordham M.G.C. 1925. *Aphrodite aculeata*. Liverpool: University Press of Liverpool; London: Hodder and Stoughton, Ltd. viii + 96 p., 10 pl.
- Fugère N., Brousseau P., Krzystyniak K., Coderre D., Fournier M. 1996. Heavy metal-specific inhibition of phagocytosis and different in vitro sensitivity of heterogeneous coelomocytes from *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta) // *Toxicology*. Vol.109. No.2–3. P.157–166.
- Galaktionov V.G. 2005. [Evolutionary Immunology]. Moscow: IKC “Academkniga”. 408 p. [In Russian]
- Galaktionov K.V., Dobrovolskij A.A. 2013. The biology and evolution of trematodes: an essay on the biology, morphology, life cycles, transmission, and evolution of digenetic trematodes. Boston: Kluwer Academic Publishers. 592 p.
- Galloway T.S., Depledge M.H. 2001. Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance // *Ecotoxicology*. Vol.10. No.1. P.5–23.
- García-Alonso J., Hoeger U., Rebscher N. 2006. Regulation of vitellogenesis in *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta): effect of estradiol-17 α on leucocytes // *Comparative Biochemistry & Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology*. Vol.143. No.1. P.55–61.
- Goodrich E.S. 1898. Memoirs: On the Nephridia of the Polychaeta: Part II. *Glycera* and *Goniada* // *Journal of Cell Science*. Vol.2. No.163. P.439–457.
- Gorbushin A.M. 2018. Immune repertoire in the transcriptome of *Littorina littorea* reveals new trends in lophotrochozoan proto-complement evolution // *Developmental & Comparative Immunology*. Vol.84. P.250–263.
- Goryshina E.N., Chaga O.Yu. 1990. [Comparative histology of internal environment tissue with the basics of immunology]. Leningrad: LGU Press. 320 p. [In Russian]
- Gupta S., Yadav S. 2016. Immuno-defense strategy in earthworms: a review article // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol.5. No.4. P.1022–1035.
- Herpin R. 1921. Sur l'origine et le rôle des cellules à réserves de la cavité générale chez *Perinereis cultrifera* et *Perinereis marioni* (Aud. et Edw.) et sur la différenciation précoce de leurs oeufs // *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences (Paris)*. Vol.173. P.249–252.
- Hess R.T. 1970. The fine structure of coelomocytes in the annelid *Enchytraeus fragmentosus* // *Journal of Morphology*. Vol.132. No.3. P.335–351.
- Homa J., Bzowska M., Klimek M., Plytycz B. 2008. Flow cytometric quantification of proliferating coelomocytes non-invasively retrieved from earthworm, *Dnedrobaena veneta* // *Developmental & Comparative Immunology*. Vol.32. P.9–14.
- Ireland M.P., Richards K.S. 1977. The occurrence and localization of heavy metals and glycogen in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Dendrobaena rubida* from a heavy metal site // *Histochemistry*. Vol.51. P.153–166.
- Jamieson B.G.M., Wampler J.E., Shultz M.C. 1981. Preliminary ultrastructural description of coelomocytes of the luminescent oligochaete, *Pontodrilus bermudensis* (Annelida) // M. De Luca, W.D. McElroy (eds.). *Bioluminescence and Chemoluminescence*. New York: Academic Press. P.543–560.
- Jamieson B.M.G. 1992. Oligochaeta // F.W. Harrison, S.L. Gardiner (eds.). *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. Vol.7. P. 217–322.
- Kauschke E., Mohrig W., Cooper E.L. 2007. Coelomic fluid proteins as basic components of innate immunity in earthworms // *European Journal of Soil Biology*. Vol.43. P.110–115.
- Kurek A., Homa J., Kauschke E., Plytycz B. 2007. Characteristics of coelomocytes of the stubby earthworm, *Allolobophora chlorotica* // *European Journal of Soil Biology*. Vol.43, P.121–126.
- Kurek A., Plytycz B. 2003. Annual changes in coelomocytes of four earthworm species // *Pedobiologia*. Vol.47. P.689–701.
- Lefebvre C., Vandenbulcke F., Bocquet B., Tasiemski A., Desmons A., Verstraete M., Salzet M., Cocquerelle C. 2008. Cathepsin L and cytostatin B gene expression discriminates immune coelomic cells in the leech *Theromyzon tessulatum* // *Developmental & Comparative Immunology*. Vol.32. P.795–807.
- Linthicum D.S., Stein E.A., Marks D.H., Cooper E.L. 1977. Electron-microscopic observations of normal coelomocytes from the earthworm, *Lumbricus terrestris* // *Cell & Tissue Research*. Vol.185. No.3. P.315–330.
- Lionetto M.G., Calisi A., Schettino T. 2012. Earthworm biomarkers as tools for soil pollution assessment // *Soil health and land use management*. IntechOpen. P.305–332.
- Little T.J., Hultmark D., Read A.F. 2005. Invertebrate immunity and the limits of mechanistic immunology // *Nature Immunology*. Vol.6. No.7. P.651–654.
- Lunetta-D'Ancona G., Russo S. 1982. Haemopoietic tissue in *Perinereis cultrifera* Grube: cytological identification and observations after treatment with lead // *Basic and Applied Histochemistry*. Vol.27. No.4. P.303–309.
- Maltseva A.L., Kotenko O.N., Kokryakov V.N., Starunov V.V., Krasnodembskaya A.D. 2014. Expression pattern of arenicins – the antimicrobial peptides of polychaete *Arenicola marina* // *Frontiers in Physiology*. Vol.5. Article No.497.

- Maltseva A.L., Starunov V.V., Zykin P.A. 2016. Application of MALDI-MSI for detection of antimicrobial peptides in tissues of the marine invertebrate *Arenicola marina* // Invertebrate Survival Journal. Vol.13. No.1. P.205–209.
- Marsden J.R. 1966. The coelomocytes of *Hermodice carunculata* (Polychaeta: Amphinomidæ) in relation to digestion and excretion // Canadian Journal of Zoology. Vol.44. No.3. P.377–389.
- McHugh D. 2000. Molecular phylogeny of the Annelida // Canadian Journal of Zoology. Vol.78. No.11. P. 1873–1884.
- Metchnikoff E. 1893. Lectures on the comparative pathology of inflammation. New York: Dover Press. 128 p.
- Milochau A., Lassegues M., Valembos P. 1997. Purification, characterization and activities of two hemolytic and antibacterial proteins from coelomic fluid of the annelid *Eisenia foetida andrei* // Biochimica et Biophysica Acta. Vol.1337. P.123–132.
- Needham A.E. 1966. The chloragogen-pigment of earthworm // Life Science. Vol.5. P.33–39.
- Oka A. 1894. Beiträge zur Anatomie der Clepsine // Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd.58. S.79–98.
- Olchawa E., Swiatkiewicz I., Homa J., Bzowska M., Plytycz B. 2006. Restoration of coelomocytes in *Dendrobaena veneta* after experimental extrusion // The eighth international symposium on earthworm ecology. 4–9th September 2006. Krakow, Poland. P.106.
- Persinina M.S., Chaga O.Yu. 1994. [Renewal and differentiation of the coelomic fluid cells of the polychaete *Arenicola marina*. I: Morphology and classification of coelomocytes] // Tsitologiya. Vol.36. P.261–267 [in Russian, with English summary].
- Picton L.J. 1898. Memoirs: On the Heart-body and Coelomic Fluid of certain Polychæta // Journal of Cell Science. Vol.2. No.162. P.263–302.
- Pilgrim M. 1965. The functional anatomy and histology of the alimentary canal of the maldanid polychaetes *Clymenella torquata* and *Euclymene oerstedii* // Proceedings of the Zoological Society of London. Blackwell Publishing Ltd. Vol.147. No.4. P.387–405.
- Poinar G.O., Jr., Hess R.A. 1977. Immune responses in the earthworm, *Aporreclodea trapezoides* (Annelida), against *Rhabditis pellio* (Nematoda) // L.A.Jr. Bulla, T.C. Cheng (eds.). Comparative Pathobiology. Vol.3. P.69–84.
- Porchet-Henneré E. 1990. Cooperation between different coelomocyte populations during the encapsulation response of *Nereis diversicolor* demonstrated by using monoclonal antibodies // Journal of Invertebrate Pathology. Vol.56. No.3. P.353–361.
- Porchet-Henneré E., Berri M.M. 1987. Cellular reactions of the polychaete annelid *Nereis diversicolor* against coelomic parasites // Journal of Invertebrate Pathology. Vol.50. No.1. P.58–66.
- Porchet-Henneré E., Berri M.M., Dhainaut A., Porchet M. 1987. Ultrastructural study of the encapsulation response of the polychaete annelid *Nereis diversicolor* // Cell and Tissue Research. Vol.248. No.2. P.463–471.
- Porchet-Henneré E., Dugimont T. 1992. Adaptability of the coccidian *Coelotropha* to parasitism. Developmental & Comparative Immunology. Vol.16. No.4. P.263–274.
- Porchet-Henneré E., Vernet G. 1992. Cellular immunity in an annelid (*Nereis diversicolor*, Polychaeta): production of melanin by a subpopulation of granulocytes // Cell & Tissue Research. Vol.269. No.1. P.167–174.
- Prento P. 1979. Metals and phosphate in the chloragosomes of *Lumbricus terrestris* and their possible physiological significance // Cell & Tissue Research. Vol.196. P.123–134.
- Ratcliffe N.A., Rowley A.F., Fitzgerald S.W., Rhodes C.P. 1985. Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances // International Review of Cytology. Vol.97. P.183–350.
- Reinhart M., Dollahon N. 2003. Responses of coelomocytes from *Lumbricus terrestris* to native and non-native eukaryotic parasites // Pedobiologia. Vol.47. No.5. P.710–716.
- Richards K.S. 1980. The histochemistry and ultrastructure of the coelomocytes of species of *Lumbricillus*, and observations on certain other enchytraeid genera (Oligochaeta: Annelida) // Journal of Zoology. Vol.191. P.557–577.
- Roch P., Cooper E.L., Eskinazi D.P. 1983. Serological evidences for a membrane structure related to human beta 2-microglobulin expressed by certain earthworm leukocytes // European Journal of Immunology. Vol.13. P.1037–1042.
- Romieu M. 1921. Les inclusions cristallines des éléocytes de *Nereis* et leurs relations avec la granulation éosinophile // Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences (Paris). Vol.168. P.367–369.
- Romieu M. 1923. Recherches histophysiologiques sur le sang et le corps cardiaque des Annélides, Polychètes. Contribution à l'histologie comparée du sang. Paris: Doin. 336 p.
- Roots B.I., Johnston P.V. 1966. The lipids and pigments of the chloragosomes of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. // Comparative Biochemistry & Physiology. Vol.17. P.285–288.
- Rosa D. 1896. Les lymphocytes des Oligochaetes // Archives Italiennes de Biologie. Vol.25. P.455–475.
- Roussel V., Pleijel F., Rouse G.W., Erséus C., Siddall M.E. 2007. A molecular phylogeny of annelids // Cladistics. Vol.23. No.1. P.41–63.
- Salzet M., Tasiemski A., Cooper E. 2006. Innate immunity in lophotrochozoans: the annelids // Current Pharmaceutical Design. Vol.12. No.24. P.3043–3050.
- Sawyer R.T., Fitzgerald S.W. 1981. Hirudineans // N.A. Ratcliffe, A.F. Rowley (eds.). Invertebrate Blood Cells. London: Academic Press. P.141–159.
- Schroeder P.C. 1967. Eleocyte nucleolus formation in relation to development of female nereid polychaetes // American Zoologist. Vol.7. No.4. P.724–1313.
- Schulenburg H., Boehnisch C., Michiels N.K. 2007. How do invertebrates generate a highly specific innate immune response? // Molecular Immunology. Vol.44. No.13. P.3338–3344.

- Shalev A., Greenberg A.H., Logdberg L., Bjorck L. 1981. Beta 2-microglobulin-like molecules in low vertebrates and invertebrates // *Journal of Immunology*. Vol.127. P.1186–1191.
- Sichel G. 1964. Cellule a funzione istiocitaria negli Invertebrati // *Italian Journal of Zoology*. Vol.31. No.2. P.447–453.
- Siedlecki M. 1903. Quelques observations sur le role des amibocytes dans le coelome d'un Annelide // *Annales de l'Institut Pasteur. Immunologie*. Vol.17. P. 449–462.
- Sima P. 1994. Annelid coelomocytes and hemocytes: Role in cellular immune reactions // V. Vetvicka, P. Sima, E.L. Cooper, M. Bilej, P. Roch (eds.). *Immunology of Annelids*. Boca Raton: CRC Press. P.115–165.
- Sima P., Slipka J. 1995. The spleen and its coelomic and enteric history // *Advances in Mucosal Immunology*. Boston, MA: Springer. P.331–334.
- Söderhäll K. (ed.). 2010. *Invertebrate immunity // Series: Advances in experimental medicine and biology*. Vol.708. New York: Springer Science & Business Media. P.65–2598.
- Spicer S.S. 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides // *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. Vol.8. No.1. P.18–35.
- Stein E., Avtalion R.R., Cooper E.L. 1977. The coelomocytes of the earthworm *Lumbricus terrestris*: morphology and phagocytic properties // *Journal of Morphology*. Vol.153. No.3. P.467–477.
- Stein E., Cooper E. 1981. The role of opsonins in phagocytosis by coelomocytes of the earthworms, *Lumbricus terrestris* // *Developmental & Comparative Immunology*. Vol.5. P.415–425.
- Stein E., Cooper E.L. 1983. Inflammatory responses in annelids // *American Zoologist*. Vol.23. No.1. P.145–156.
- Stephenson J. 1930. *The Oligochaeta*. Oxford: Clarendon Press. 978 pp.
- Struck T.H., Paul C., Hill N., Hartmann S., Hosel C., Kube M., Lieb B., Meyer A., Tiedemann R., Purschke G., Bleidorn C. 2011. Phylogenomic analyses unravel annelid evolution // *Nature*. Vol.471. No.7336. P.95–98.
- Thomas J.A. 1930. Etude d'un processus neoplasique chez *Nereis diversicolor* O.F.M. du a la degenerescence des ovocytes et quelquefois des soies // *Archive of Anatomy and Microscopic Morphology. Exp.*26. P.251–333.
- Valembois P., Cazaux M. 1970. Etude autoradiographique du role trophiques des cellules chloragogenes des vers de terre // *Comptes rendus des séances de la Société de biologie (Paris)*. Vol.164. P.1015–1021.
- Valembois P., Lassègues M., Roch P. 1992. Formation of brown bodies in the coelomic cavity of the earthworm *Eisenia fetida andrei* and attendant changes in shape and adhesive capacity of constitutive cells // *Developmental & Comparative Immunology*. Vol.16. No.2–3. P.95–101.
- Valembois P., Roch P., Lassegues M., Davant N. 1982. Bacteriostatic activity of a chloragogen cell secretion // *Pedobiologia*. Vol.24. P.191–195.
- Valembois P., Seymour J., Lassegues M. 1994. Evidence of lipofuscin and melanin in the brown body of the earthworm *Eisenia fetida andrei* // *Cell & Tissue Research*. Vol.277. P.183–188.
- Vetvicka V., Sima P. 2009. Origins and functions of annelid immune cells: the concise survey // *Invertebrate Survival Journal*. Vol.6. P.138–143.
- Ville P., Roch P., Cooper E., Masson P., Narbonne J. 1995. PCBs increase molecular-related activities (lysosyme, antibacterial, hemolysis, proteases) but inhibit macrophage-related functions (phagocytosis, wound healing) in earthworms // *Journal of Invertebrate Pathology*. Vol.65. P.217–224.
- Vivier E., Henneré E. 1964. Cytologie, cycle et affinités de la Coccidie *Coelotropha durchoni* nomen novum (= *Eucoccidium durchoni* Vivier), parasite de *Nereis diversicolor* O.F. Müller (Annelide, Polychète) // *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*. Vol.1. P.154–206.
- Wampler J.E., Jamieson B.G.M. 1986. Cell bound luminescence from *Pontodrilus bermudensis* and its similarities to other earthworm bioluminescence // *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol.84. P.81–87.

Responsible editor E.N. Temereva