

## ИНЪЕКЦИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ЧАСТИЦ ВЫЗЫВАЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ СТАБИЛЬНЫХ ГИАЛИНОВЫХ КЛЕТОК В ГЕМОЛИМФЕ ЛИЧИНОК МЯСНОЙ МУХИ *CALLIPHORA VICINA*

© Т. В. Кинд

Лаборатория биофармакологии и иммунологии насекомых Биологического института С.-Петербургского государственного университета;  
электронный адрес: [tatiana.kind@mail.ru](mailto:tatiana.kind@mail.ru)

Стабильные гиалиновые клетки (предшественники тромбоцитоидов) присутствуют в гемолимфе личинок *Calliphora vicina* в значительном количестве в период питания. Их концентрация уменьшается во время опустошения зоба и снижается практически до нуля у бродячих особей. Однако инъекция в гемоцель опустошающих и опустошивших зоб личинок чужеродных частиц индуцирует заметное нарастание концентрации гиалиновых клеток путем их трансформации из прогемоцитов в течение 24 ч после инъекции. Максимум реакции достигается через 2—3 сут. Идентичный ответ вызывает инъекция как абиотических (частицы угля), так и биотических (эритроциты человека) объектов. Ни повреждение стенки тела, ни бактериальная иммунизация, ни инъекция физиологического раствора подобного эффекта не оказывают. У опустошающих зоб личинок гиалиновые клетки образуются в кластерах недифференцированных прогемоцитов, а у только что опустошивших зоб и диапаузирующих особей наблюдается предварительная дедифференцировка части прогемоцитов, которые в этот период уже начинают преобразование в плазматоциты I. Предполагается, что сигнальное влияние на дифференцировку новых партий иммуноактивных клеток оказывает заполнение тромбоцитоидных агглютинатов чужеродными частицами.

Ключевые слова: насекомые, *Calliphora*, иммунология, гемоциты, гиалиновые клетки.

Клеточная защитная реакция насекомых на бактериальную инвазию или заражение яйцами паразитов является комплексной, достаточно сложной и включает в себя быстрые и медленные иммунные реакции. Наиболее оперативно реагируют определенные группы гемоцитов (иммуноцитов), начинающих в считанные минуты фагоцитоз, нодуляцию или инкапсуляцию объектов, воспринимаемых как чужеродные. Для двукрылых, в частности каллифорид, достаточно подробно исследованных в этом плане, это три типа гемоцитов — ювенильные и позднеличиночные плазматоциты, осуществляющие фагоцитоз мелких чужеродных частиц и бактерий, и тромбоцитоиды, которые помимо фагоцитоза способны к инкапсуляции более крупных посторонних объектов, таких как яйца паразитических насекомых (Zachary et al., 1975; Ratcliffe, Rowley, 1979; Lavine, Strand, 2002; Кинд, 2005, 2007). Инвазия бактерий, паразитов или инъекция абиотических частиц в гемоцель насекомых индуцирует не только непосредственные реакции иммуноцитов, но и вызывают заметные последствия, в частности увеличение антибактериальной активности клеток (Mohrig, Schitteck, 1979; Wiesner, 1991; Basset et al., 2000).

В процессе изучения клеточной защитной реакции личинок *Calliphora vicina* (Кинд, 2005) было обнаружено, что в ряде случаев через 1 сут после инъекции суспензии частиц угля в гемолимфе личинок заметно возрастает число стабильных гиалиновых клеток. Большинство авторов эти клетки обычно упоминают как энцитойды (Brehelin et al., 1978; Akai, Sato, 1979; Gupta,

1979; Jones, 1979; Kaaya, Ratcliffe, 1982). Они являются предшественниками тромбоцитоидов, аналогов ламеллоцитов или подоцитов *Drosophila*.

В данной работе мы исследовали реакцию клеточных элементов гемолимфы, особенно стабильных гиалиновых клеток, у личинок *C. vicina* на различного типа стрессорные воздействия, включая повреждение кутикулы, иммунизацию и инъекцию чужеродных абиотических и биотических частиц.

### Материал и методика

Для экспериментов была использована петергофская популяция *Calliphora vicina*, обладающая склонностью к формированию личиночной диапаузы в потомстве короткодневных самок во время содержания личинок при умеренно низкой температуре (12 °С).

Личинок выращивали на свиной печени или почках при 12 °С. В этих условиях опустошившие зоб диапаузирующие личинки не возобновляют развития как минимум на протяжении 3 мес. Перенос в более высокотемпературные условия (15—20 °С) приводит к быстрому запуску метаморфоза и пупаризации.

Для индукции защитной реакции личинкам различного возраста инъекцировали по 10 мкл физиологического раствора (0.65 г NaCl, 0.014 г KCl, 0.012 г CaCl<sub>2</sub> и дистиллированная вода до 100 мл) или 2—5 % суспензии мелко растертого медицинского активированного угля

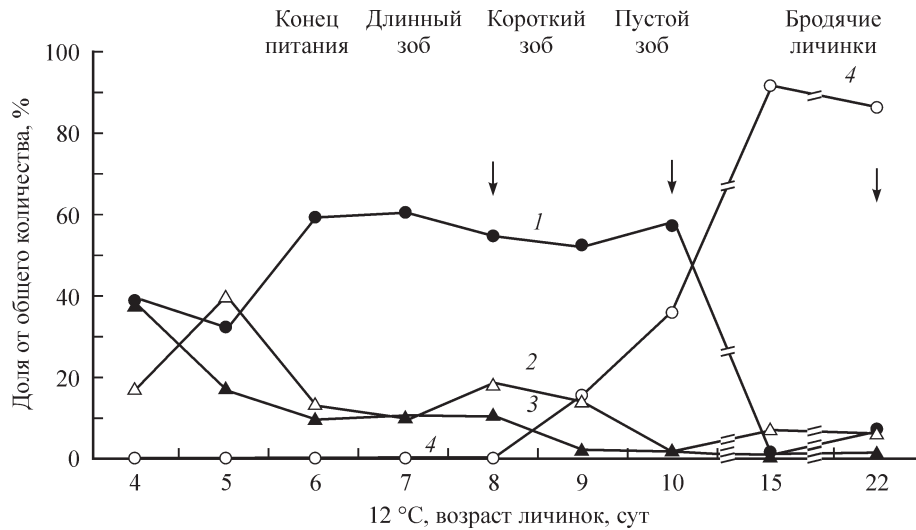


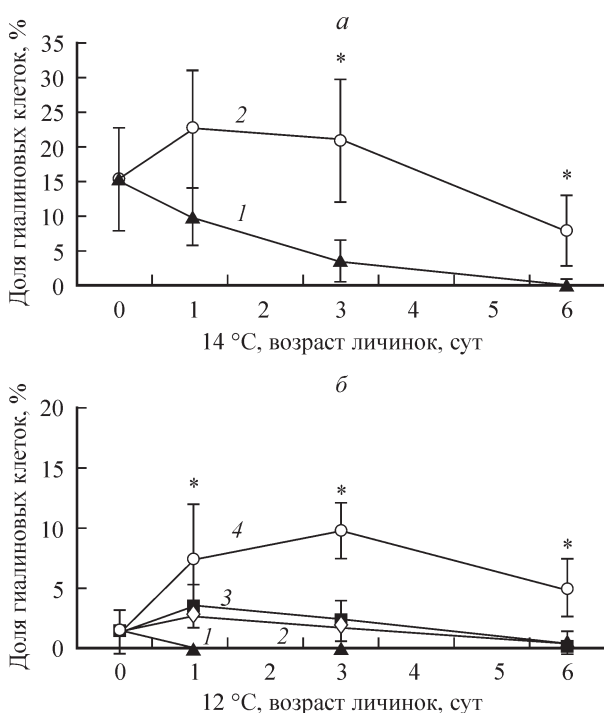
Рис. 1. Динамика гемоцитарной формулы у питающихся и окончивших питание личинок *Calliphora vicina*.

1 — прогемоциты, 2 — тромбоциты, 3 — стабильные гиалиновые клетки, 4 — плазматциты I. В верхней части рисунка указаны стадии развития личинок; стрелками отмечены моменты будущих повреждающих воздействий.

или эритроцитов человека в физиологическом растворе. Проводили также иммунизацию путем укола иглой, смоченной в суспензии смеси грамотрицательных и грамположительных бактерий. В каждой серии использовали по 50 особей. Как контрольных, так и подопытных личинок после инъекций или иммунизации содержали при 15 °C. Ежедневно личинок проверяли на наличие пупаризации. Из этих же вариантов брали пробы для исследования состояния гемоцитов.

Для подсчета гемоцитарной формулы в каждом варианте использовали по 2 временных препарата гемолимфы. Капли гемолимфы, взятые после прокола в передней части у 5 личинок, смешивали на предметном стекле и немедленно исследовали под микроскопом с использованием оптики Номарского (дифференциальный

интерференционный контраст — ДИК) при объективе 40×. Таким образом, в каждом варианте был изучен клеточный состав гемолимфы 10 личинок. Изображения мочного слоя гемоцитов были получены с использованием цифровой видеокамеры Digital CDSP, установленной на микроскопе Jenamed (Германия). Изображения обрабатывали и редактировали с помощью программ iuVCR и Adobe Photoshop (v. 7) соответственно. Для вычисления доли гиалиновых клеток подсчитывали количество гемоцитов различного типа в 10 произвольно выбранных полях (по 5 полей для каждого из двух препаратов). Эти результаты служили базой для статистической обработки, а именно вычисления средней доли гиалиновых клеток, квадратичного отклонения и доверительного интервала ( $P = 0.05$ ) для каждого варианта.



## Результаты

В процессе роста и развития личинок *C. vicina* происходят радикальные изменения гемоцитарной формулы (Кинд, 2003; Тулин, Чага, 2003). Если у питающихся личинок значительную часть дифференцированных гемоцитов составляют гиалиновые клетки и тромбоциты, то после окончания питания, в процессе опустошения зоба доля стабильных гиалиновых клеток сокращается с 10—15 % у личинок с полуопустошенным зобом практически до нуля у блуждающих и диапаузирующих особей (рис. 1). Содержание тромбоцитов также уменьшается, однако они сохраняются, хотя и в меньшем количестве, вплоть до запуска пупаризации.

Рис. 2. Влияние повреждающих воздействий на динамику доли стабильных гиалиновых клеток у наполовину опустошивших зоб (а) и полностью опустошивших зоб (б) личинок *Calliphora vicina* (среднее значение и доверительный интервал при  $P = 0.05$ ).

а: 1 — контроль, 2 — инъекция суспензии угля; б: 1 — контроль, 2 — иммунизация, 3 — инъекция физиологического раствора, 4 — инъекция суспензии угля. Звездочки указывают на достоверные различия между опытом и контролем.

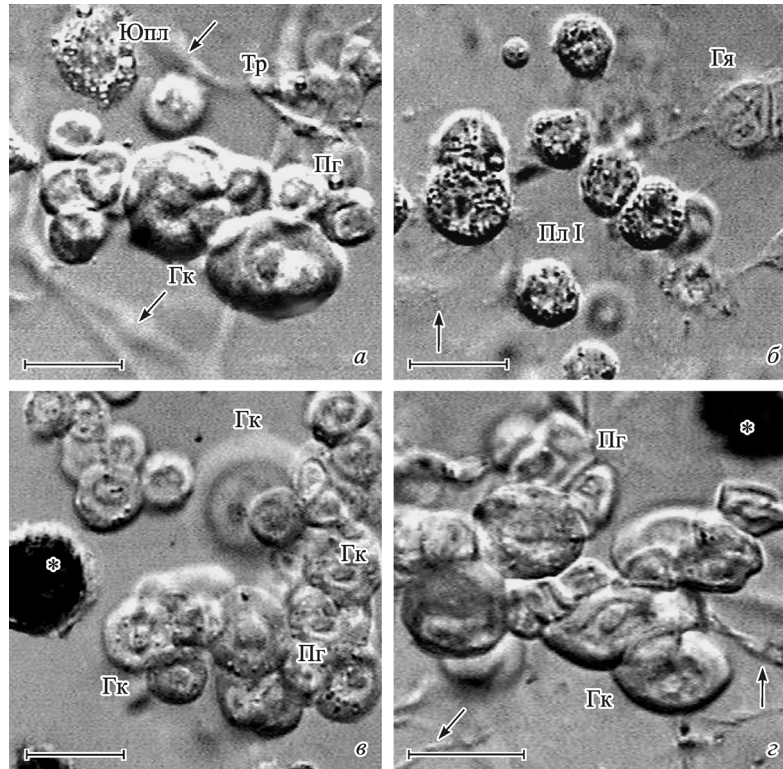


Рис. 3. Влияние инъекции угля в наполовину опустошивших зоб личинок на гемоциты.

*а* — контрольные личинки с наполовину опустошенным зобом; виден небольшой кластер недифференцированных прогемоцитов с двумя прилегающими стабильными гиалиновыми клетками, ювенильный плазматоцит и тонкие тяжи цитоплазмы тромбоцитоидов (стрелки). *б* — контрольные личинки через 3 сут при 14 °С; плазматоциты I заполнены включениями; видны «голые» ядра тромбоцитоидов и немногочисленные фрагменты их цитоплазмы (стрелка). *в* — через 1 сут после инъекции угля; виден кластер недифференцированных прогемоцитов, гиалиновые клетки разных размеров и заполненные углем ювенильные плазматоциты (звездочка). *г* — через 3 сут после инъекции; видны недифференцированные прогемоциты, гиалиновые клетки разной формы и тяжи тромбоцитоидов (стрелки); в правом верхнем углу — заполненный углем плазматоцит (звездочка). Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому (на рис. 3—6). Гк — стабильная гиалиновая клетка, Гя — «голое» ядро тромбоцитоида, Пг — прогемоциты, Пл I — плазматоцит I. Тр — тромбоцитоид, Юпл — ювенильный плазматоцит. Масштабный отрезок — 20 мкм.

У личинок, постоянно содержавшихся при низкой температуре и находящихся в состоянии диапаузы, на протяжении 1-й нед после опустошения зоба уменьшается доля прогемоцитов и возрастает доля свободных плазматоцитов I, отделившихся от кластеров. Этот процесс продолжается как минимум на протяжении 1 мес, когда доля прогемоцитов снижается с 35—40 до 10—15 %, а доля плазматоцитов соответственно возрастает от 55—60 до 80—90 % (рис. 1).

Инъекции, иммунизацию и уколы стерильной иглой проводили личинкам четырех сроков развития: на стадии наполовину опустошенного зоба, когда в гемолимфе еще сохраняется определенное количество гиалиновых клеток, только что опустошившим зоб личинкам с почти полностью исчезнувшими гиалиновыми клетками, а также через 7 и 12 сут, после начала стадии бродячей личинки, когда гиалиновые клетки — как стабильные, так и нестабильные — из гемолимфы исчезали полностью.

У контрольных личинок с наполовину опустошенным зобом прогемоциты, находящиеся в кластерах средней величины, представлены небольшими округлыми клетками с гомогенной цитоплазмой и находятся в недифференцированном состоянии. В то же время в гемолимфе наличествуют крупные ювенильные плазматоциты, заполненные включениями. Видны также многочисленные филаменты цитоплазмы тромбоцитоидов и отдельные гиалиновые клетки (рис. 3, *а*). Через 2 сут у только что освободивших зоб личинок в кластерах про-

гемоцитов видны четкие признаки дифференцировки в плазматоциты I — появление мелких катаболических липидных капелек, а сами плазматоциты I в значительном количестве появляются в гемолимфе (рис. 3, *б*). Гиалиновые клетки в это время не обнаруживаются, а тромбоцитоиды представлены многочисленными тонкими филаментами цитоплазмы и отдельными «голыми» ядрами. В отличие от контрольных личинок у опустошивших зоб личинок, предварительно инъецированных суспензиями угля или эритроцитов, количество стабильных гиалиновых клеток на протяжении следующих 24 ч не только не уменьшается, но даже несколько возрастает, их доля увеличивается с 15 до 22—25 % (рис. 2). При этом первые небольшие гиалиновые клетки с очень крупными ядрышками в ядрах и гомогенной цитоплазмой появляются в пределах кластеров прогемоцитов (рис. 3, *в*). Параллельно в кластерах снижается количество дифференцирующихся плазматоцитов I. В последующие дни количество стабильных гиалиновых клеток у инъецированных личинок продолжает увеличиваться (до 25—40 %) как за счет небольших клеток в пределах кластеров, так и за счет крупных, свободно плавающих в гемолимфе (рис. 3, *г*). Видно превращение некоторых крупных гиалиновых клеток в протромбоцитоиды. Клетки при этом теряют округлую форму и распадаются на округлые фрагменты и «голые» ядра с периферическим ободком цитоплазмы (рис. 5, *б*). Доля гиалиновых клеток снижается лишь после переноса в повышенную температуру и

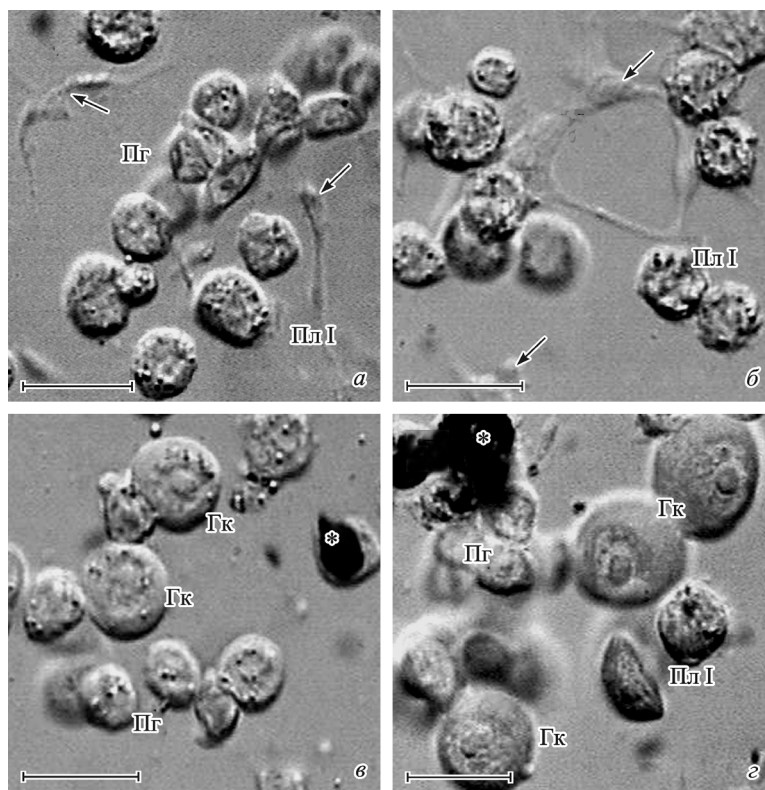


Рис. 4. Влияние инъекции угля в только что опустошивших зоб личинок на гемоциты.

*а* — контроль; в центре виден небольшой кластер прогемоцитов с отдельными включениями; плазматоциты I начинают накапливать катаболические включения; присутствуют также тонкие филаменты тромбоцитоидов (стрелки). *б* — контрольная личинка через 3 сут при 14 °С; плазматоциты возрастают в величине, количество включений в них увеличивается. *в* — через 1 сут после инъекции угля; виден маленький тромбоцитоидный агглютинат, забитый фагоцитированным углем (звездочка); прогемоциты почти лишаются включений, появляются первые гиалиновые клетки. *г* — через 3 сут после инъекции; прогемоциты недифференцированные, видны крупные гиалиновые клетки и отдельные плазматоциты I; звездочкой отмечен небольшой тромбоцитоидный агглютинат, заполненный углем. Обозначения те же, что и на рис. 3. Масштабный отрезок — 20 мкм.

запуска пупаризации. Количество тромбоцитоидов не увеличивается столь отчетливо, как число гиалиновых клеток, однако возможно, что это связано с большей трудностью их точного учета. Через 2—3 сут после инъекции наблюдается значительное количество тромбоцитоидных фрагментов, а затем слипание гемоцитов с помощью сетей тромбоцитоидной цитоплазмы в рыхлые конгломераты, никогда не наблюдавшиеся в контроле.

Как уже упоминалось выше, у опустошивших зоб личинок количество гиалиновых клеток обоих типов сокращается почти до нуля, а прогемоциты переключаются на дифференцировку в плазматоциты I (рис. 4, *а, б*). Для личинок этой возрастной группы был применен более широкий спектр повреждающих стрессорных воздействий: укол стерильной и смоченной в суспензии бактерий тонкой иглой (иммунизация), укол толстой иглой, инъекция физиологического раствора и, наконец, инъекция суспензии мелких частиц угля. Анализ гемолимфы через 1, 3 и 6 сут после воздействий показал, что уколы, иммунизация и инъекция физиологического раствора не оказывают заметного влияния ни на общее количество гемоцитов разных типов, ни на гемоцитарную формулу (рис. 2, *б*). Доля стабильных гиалиновых клеток повышается максимум до 3 %. В то же время после инъекции угля уже через 1 сут становится заметной переориентация дифференцировки части прогемоцитов на продукцию гиалиновых клеток. Из них исчезают катаболические включения, а в пределах кластеров и рядом с ними появляются небольшие клетки с характерными очень

крупными ядрышками (рис. 4, *в*). На протяжении следующих 2—3 сут количество гиалиновых клеток возрастает до 9—10 %, размеры их увеличиваются, а некоторые теряют округлую форму, становятся амебоидными и переходят в фазу протромбоцитоидов, способных к захвату чужеродных частиц (рис. 5, *в, г*).

При дальнейшем выдерживании опустошивших зоб личинок при 10—12 °С, т. е. в поддерживающих состоянии диапазоны условий, характер реакции их гемолимфы на стрессорные воздействия остается прежним — почти полное отсутствие реакции на уколы, иммунизацию и инъекцию физиологического раствора и значительное возрастание количества стабильных гиалиновых клеток после инъекции суспензии угля (рис. 6). Во всех случаях максимум ответа наблюдался через 2—3 сут после инъекции, затем доля стабильных гиалиновых клеток заметно снижалась (рис. 7).

## Обсуждение

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что инъекция в гемоцель личинок *C. vicina* чужеродных частиц приводит к появлению в гемолимфе стабильных гиалиновых клеток (эноцитоидов). Эти гемоциты сами по себе не являются иммуноактивными, но являются предшественниками тромбоцитоидов, уникальных клеток, в зрелом состоянии присутствующих в гемолимфе в виде маленьких фрагментов цитоплазмы и «го-

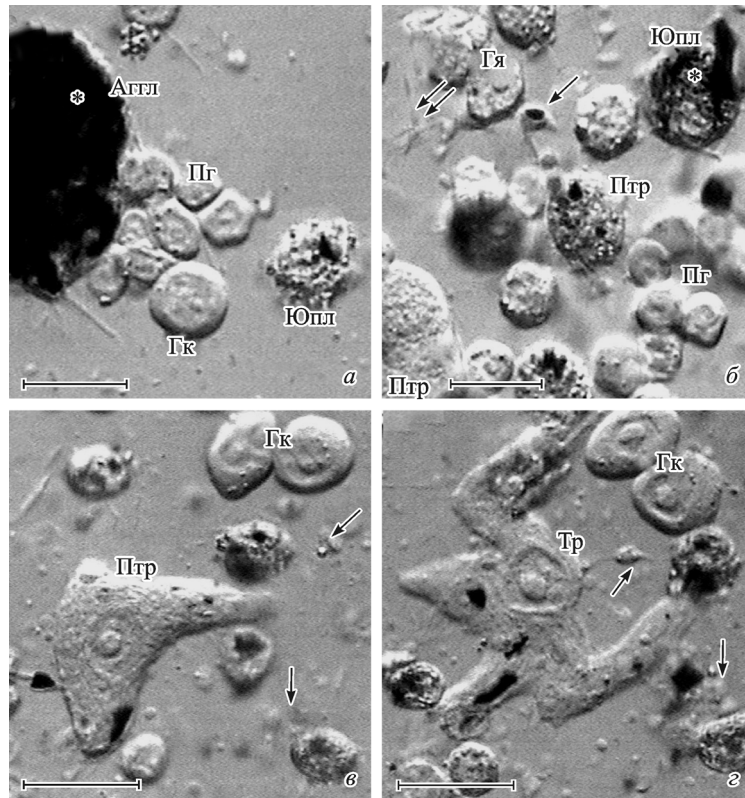


Рис. 5. Образование тромбоцитоидов из стабильных гиалиновых клеток после инъекции угля в полуопустошивших (*а, б*) и опустошивших (*в, з*) зоб личинок.

*а* — через 1 ч после инъекции угля; виден крупный тромбоцитоидный агглютинат, заполненный захваченными частицами (*звездочка*); фрагменты тромбоцитоидной цитоплазмы практически отсутствуют. *б* — через 3 сут после инъекции; видно образование протромбocитоидов с грубоструктурированной цитоплазмой и их распад на отдельные фрагменты (*стрелки*) и «голые» ядра. *в, з* — последовательные этапы образования амeboидного тромбоцитоида с захватом частиц угля (*звездочки*); изображения получены с интервалом 8 мин; в гемолимфе присутствуют многочисленные фрагменты цитоплазмы (*стрелки*). Аггл — тромбоцитоидный агглютинат, Пртр — протромбocитоид; остальные обозначения те же, что и на рис. 3, 4. Масштабный отрезок — 20 мкм.

лых» ядер. Они способны моментально реагировать на появление чужеродных элементов путем их инкапсуляции или фагоцитоза (в зависимости от величины) (Zachary, Hoffmann, 1973; Zachary et al., 1975; Кинд, 2005, 2007).

Аналогами стабильных гиалиновых клеток — тромбоцитоидов — являются ламеллоциты и, возможно, подоциты другого представителя высших двукрылых — *Drosophila melanogaster*, которые отвечают за инкапсуляцию яиц паразитических наездников (Rizki, Rizki, 1992; Dearolf, 1998; Lanot et al., 2001; Meister, Lagueux, 2003). Ламеллоциты являются иммуноактивными клетками, непосредственно участвующими в образовании капсул, но не способными к фагоцитозу. Между ламеллоцитами и стабильными гиалиновыми клетками имеется сходство как в функциональных параметрах, так и в принципах индукции их дифференцировки. Ламеллоциты, в нормальных условиях составляющие лишь ничтожную часть общей популяции гемоцитов, появляются в массе лишь в ответ на заражение яйцами наездников или введение в гемоцель посторонних частиц. Они дифференцируются в передних, а позже и в задних долях лимфатических желез из прогемоцитов, хотя не исключается и их частичное образование из плазматоцитов как в пределах лимфатических желез, так и в гемолимфе (Shresta, Gateff, 1982; Rizki, Rizki, 1984; Lanot et al., 2001; Holz et al., 2003; Ribeiro, Breherlin, 2006).

Основные различия между двумя этими типами клеток имеют место в отношении динамики их появления в процессе развития. Ламеллоциты *Drosophila* практически не выявляются в гемолимфе вплоть до запуска пупаризации, а инициация их дифференцировки невозможна у личинок моложе конца II возраста (Rizki, Rizki, 1992; Lanot et al., 2001; Sorrentino et al., 2002). Напротив, гиалиновые клетки *Calliphora* наиболее многочисленны именно у молодых личинок, а после опустошения зоба практически исчезают из гемолимфы. Вновь они могут появляться только непосредственно перед метаморфозом.

Несмотря на то что в естественных условиях продукция гиалиновых клеток у опустошивших зоб личинок прекращается, она может быть искусственно инициирована инъекцией чужеродных частиц как биотической, так и абиотической природы. При этом у опустошающих зоб личинок наблюдается простое нарастание дифференцировки прогемоцитов в гиалиновые клетки, не сопровождающееся предварительным изменением их морфологии. Вследствие этого происходит торможение продукции плазматоцитов I, и через 1 сут после инъекции они не появляются в гемолимфе, хотя у контрольных личинок в этот же срок уже наблюдается их образование.

В то же время у опустошивших зоб особей и тем более у личинок, находящихся в состоянии диапаузы, у которых кластеры прогемоцитов состоят почти целиком из

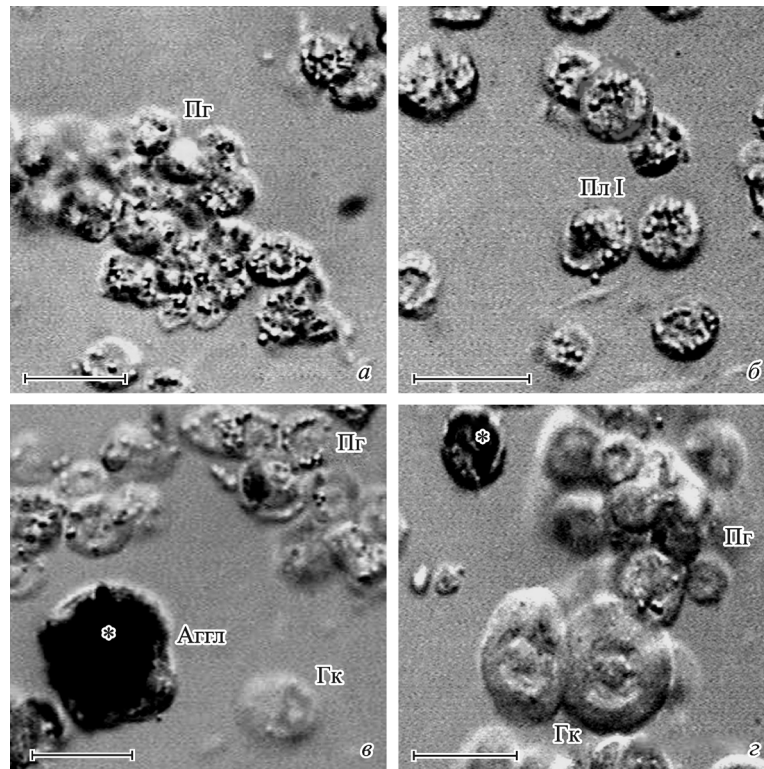


Рис. 6. Влияние инъекции угля в диапаузирующих личинок через 2 нед после опустошения зоба на гемоциты.

*а* — крупный кластер прогемоцитов в гемолимфе контрольной личинки; в прогемоцитах видны довольно многочисленные катаболические включения. *б* — плазматоциты I у контрольной личинки, заполненные включениями. *в* — гемоциты через 2 сут после инъекции угля; видно накопление частиц угля в тромбоцитоидном агглютинате (звездочка); количество включений в прогемоцитах значительно сокращается. *г* — через 8 сут после инъекции угля; видны возврат прогемоцитов к недифференцированному состоянию и появление крупных гиалиновых клеток (звездочка). Обозначения те же, что и на рис. 3—6. Масштабный отрезок — 20 мкм.

клеток, уже начавших дифференцировку в плазматоциты, наряду с появлением плазматоцитов I происходит возврат части прогемоцитов к более раннему недифференцированному состоянию. При этом прогемоциты лишаются катаболических включений и их цитоплазма становится гомогенной. Параллельно в пределах кластеров появляются небольшие гиалиновые клетки, которые впоследствии увеличиваются в размерах и отделяются от кластеров. На некоторых препаратах хорошо видно превращение отдельных крупных стабильных гиалиновых

клеток в протромбоцитоиды. Таким образом, можно проследить последовательность событий, приводящих после индукции к появлению тромбоцитоидов у личинок *C. vicina*: это возврат прогемоцитов в более раннее недифференцированное состояние и последующее их преобразование в стабильные гиалиновые клетки, а затем и в тромбоцитоиды.

Индукция образования гиалиновых клеток после инъекции чужеродных частиц является краткосрочной и не затрагивает всю популяцию прогемоцитов. Через

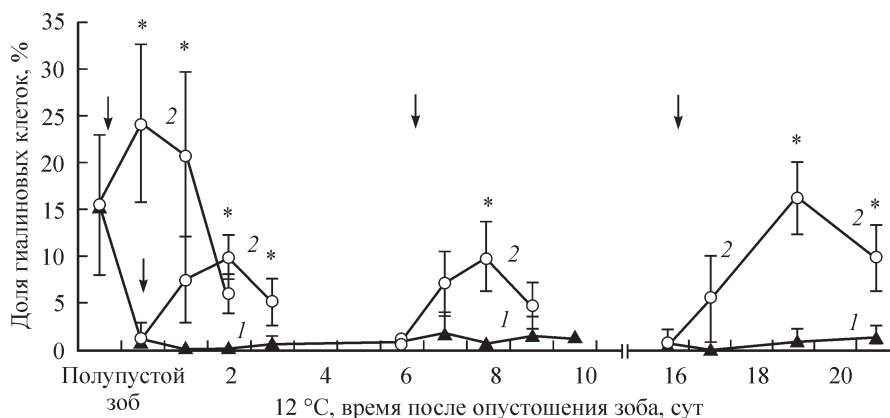


Рис. 7. Влияние инъекции угля на продукцию стабильных гиалиновых клеток у личинок разного возраста (среднее значение и доверительный интервал).

Стрелками обозначены моменты инъекций, звездочки показывают достоверность различий при  $P = 0.05$ . 1 — контроль, 2 — инъекция суспензии угля.

2—3 сут выработка новых партий стабильных гиалиновых клеток прекращается и прогемоциты вновь возвращаются к дифференцировке в плазматоциты.

Гемоцитарная формула у *C. vicina* строго привязана к этапам развития и определяется титром гормона линьки экдизона. В отличие от *Drosophila* у личинок которой образование ламеллоцитов возможно только на поздней стадии развития и полностью подавляется у мутаций с дефицитом экдизона (Sorrentino et al., 2002), у *Calliphora* присутствие гиалиновых клеток ограничено относительно ранними этапами онтогенеза, для которых характерен пониженный титр гормона линьки. Не исключено, что одним из эффектов инъекций чужеродных частиц может быть изменение гормонального баланса травмированных особей. На подобную возможность указывает и ранее отмеченный факт (Кинд, 2005; рис. 1): инъекции вызывают задержку пупаризации.

Таким образом, при общем большом сходстве защитных клеточных реакций у представителей двух модельных видов двукрылых на появление в гемоцеле чужеродных объектов между ними наличествуют и значительные различия. Вероятно, это связано с различной широтой спектра функций у ламеллоцитов, с одной стороны, и тромбоцитозидов — с другой. Ламеллоциты вовлекаются только в инкапсуляцию яиц паразитов (Lanot et al., 2001), в то время как протромбоцитозиды и тромбоцитозиды в качестве конечного этапа развития стабильных гиалиновых клеток способны не только к обволакиванию крупных, но и к фагоцитозу мелких частиц. Их моментальная реакция на инвазию и образование агглютинатов, переполненных захваченными объектами, приводит к выведению тромбоцитозидов из пула иммуноактивных элементов. Поэтому дифференцировка дополнительного количества стабильных гиалиновых клеток представляется важной компонентой восстановления полноценной защитной клеточной реакции организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта президента РФ (Ведущие научные школы, НШ-2232).

### Список литературы

- Кинд Т. В. 2003. Гемоциты мясной мухи *Calliphora vicina* и их динамика при развитии личинок и индукции метаморфоза. Цитология. 45 (1) : 14—25.
- Кинд Т. В. 2005. Агглютинация и фагоцитоз чужеродных биотических частиц гемоцитами мясной мухи *Calliphora vicina* in vivo. I. Динамика фагоцитарной активности гемоцитов в онтогенезе личинок. Цитология. 47 (7) : 609—622.
- Кинд Т. В. 2007. Гемоциты с различными типами защитной реакции в онтогенезе трех видов мясных мух рода *Calliphora*. В кн.: Стратегия адаптации наземных членистоногих к неблагоприятным условиям среды. Тр. БиНИИ СПбГУ. СПб.: Изд-во СПбГУ. 53 : 306—335.
- Тулин Д. В., Чага О. Ю. 2003. Гемоциты личинки *Calliphora vicina*. I. Гистологический анализ. Цитология. 45 (10) : 976—985.
- Akai H., Sato S. 1979. Surface and internal ultrastructure of hemocytes of some insects. In: Insect hemocytes. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press. 129—154.
- Basset A., Khush R. S., Braun A., Gardan L., Boccard F., Hoffmann J. A. 2000. The phytopathogenic bacteria *Erwinia carotovora* infects *Drosophila* and activates an immune response. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 97 : 3376—3381.
- Brehelin M., Zachary D., Hoffman J. A. 1978. A comparative ultrastructural study of blood cells from nine insect orders. Cell Tissue Res. 195 : 45—57.
- Dearolf C. R. 1998. Fruit fly «leukemia». Biochim. biophys. acta. Reviews on Cancer. 1377 : M13—M23.
- Gupta A. P. 1979. Hemocyte types. Their structure, synonymies, interrelationships and taxonomic significance. In: Insect hemocytes. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press. 87—127.
- Holz A., Bossinger B., Strasser T., Janning W., Klapper R. 2003. The two origins of hemocytes in *Drosophila*. Development. 130 : 4955—4962.
- Jones J. C. 1979. Pathways and pitfalls in the classification and study of insect hemocytes. In: Insect hemocytes. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press. 279—300.
- Kaaya G. P., Ratcliffe N. A. 1982. Comparative study of hemocytes and associated cells of some medically important Dipterans. J. Morphol. 173 : 351—365.
- Lanot R., Zachary D., Holder F., Meister M. 2001. Postembryonic hematopoiesis in *Drosophila*. Develop. Biol. 230 : 243—257.
- Lavine M. D., Strand M. R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. 32 : 1295—1309.
- Meister M., Lagieux M. 2003. *Drosophila* blood cells. Cell. Microbiol. 5 : 573—580.
- Mohrig W., Schitteck D. 1979. Phagocytosis-stimulating mediators in insects. Acta biol. med. Ger. 38 : 953—958.
- Ratcliffe N. A., Rowlet A. F. 1979. Role of hemocytes in defense against biological agents. In: Insect hemocytes. Cambridge, England: Cambridge Univ. Press. 331—414.
- Ribeiro C., Breherlin M. 2006. Insect haemocytes: what type of cell is that? J. Insect Physiol. 52 : 417—429.
- Rizki T. M., Rizki R. M. 1984. The cellular defense system of *Drosophila melanogaster*. In: R. C. King, H. Akai (Eds). New York: Plenum Publ. 579—604.
- Rizki T. M., Rizki R. M. 1992. Lamellocyte differentiation in *Drosophila* larvae parasitized by *Leptopilina*. Develop. Comp. Immunol. 16 : 103—110.
- Shrestha R., Gateff E. 1982. Ultrastructure and cytochemistry of the cell types in the larval hematopoietic organs and hemolymph of *Drosophila melanogaster*. Develop. Growth Differ. 24 : 65—82.
- Sorrentino R. P., Carton Y., Govind S. 2002. Cellular immune response to parasite infection in the *Drosophila* lymph gland is developmentally regulated. Develop. Biol. 243 : 65—80.
- Wiesner A. 1991. Induction of immunity by latex beads and by hemolymph transfer in *Galleria mellonella*. Develop. Comp. Immunol. 15 : 241—250.
- Zachary D., Brehelin M., Hoffmann J. A. 1975. Role of the «thrombocytoids» in capsule formation in the dipteran *Calliphora erythrocephala*. Cell Tissue Res. 162 : 343—348.
- Zachary D., Hoffmann J. A. 1973. The haemocytes of *Calliphora erythrocephala* (Meig.) (Diptera). Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 141 : 55—73.

Поступила 10 X 2007

---

THE FOREIGN PARTICLES INJECTION INDUCES STABLE HYALINE CELLS DIFFERENTIATION  
IN THE HEMOLYMPH OF THE BLOWFLY *CALLIPHORA VICINA* LARVAE

T. V. Kind

Laboratory of Biopharmacology and Immunology of Insects, Biological Institute of St. Petersburg State University;  
e-mail: tatiana.kind@mail.ru

The stable hyaline cells (thrombocytoids precursors) are prevailing haemocytes type in young larvae of *Calliphora vicina*. Their concentration decreased significantly during the crop emptying and become completely absent in wandering larvae. However, the injection of foreign particles into the haemocoel induced evident increase in the number of stable hyaline cells by means of transformation from prohaemocytes within 24 h after the treatment. Maximum of hyaline cells concentration is achieved on the 2—3 day when the part of them starts to transform into prothrombocytoids. Injection of both abiotic (charcoal) and biotic (human erythrocytes) foreign particles exerts an identical effect. Puncture of the body wall, bacterial immunization and injection of saline did not induce hyaline cells appearance. In crop emptying larvae, the stable hyaline cells originate within the clusters of undifferentiated stem cells, i. e. prohaemocytes. After the completion of crop emptying in wandering and diapausing larvae, preliminary dedifferentiation of very young plasmatocytes may be also observed. It is suggested that specification of the stable hyaline cells is induced by thrombocytoids after engulfing of the injected foreign particles and forming of their agglutinates.

---