

РОЛЬ ГЕМОЦИТОВ ЛИЧИНОК МЯСНОЙ МУХИ *CALLIPHORA VOMITORIA* В РАСПОЗНАВАНИИ И ЭЛИМИНАЦИИ ИЗ ГЕМОЛИМФЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА И ЧАСТИЦ УГЛЯ

© Т. В. Кинд

Биологический институт С.-Петербургского государственного университета;
электронный адрес: tatiana.kind@mail.ru

Исследование реакции гемоцитов личинок *Calliphora vomitoria* на появление в гемоцеле эритроцитов показало, что распознавание эритроцитов производится в основном тромбоцитоидами. Участие в адгезии плазматоцитов также имеется, но оно не столь отчетливо выражено. Реакция агглютинации тромбоцитоидов по отношению к эритроцитам становится более интенсивной после прекращения питания и остается на высоком уровне на протяжении всего периода опустошения зоба. Захваченные эритроциты в агглютинатах уже через 5—10 мин показывают признаки деструкции и распадаются на фрагменты, а в более поздние сроки могут образовывать бесструктурную массу. Вторичная инъекция частиц угля демонстрирует, что как агглютинаты, так и плазматоциты даже после заполнения эритроцитами способны к дополнительному поглощению абиотических инвайдеров. При этом, несмотря на отчетливые изменения морфологии агглютинатов, их рецептивность и способность к присоединению новых порций чужого остаются на постоянном достаточно высоком уровне. Как и тромбоцитоидные агглютинаты, плазматоциты фагоцитируют угольные частицы вне зависимости от длительности предшествующей экспозиции эритроцитов. Инъекция смеси эритроцитов и угля приводит к появлению агглютинатов, содержащих как абиотические, так и биотические частицы, лежащие вперемешку. Несомненно, что популяция плазматоцитов I является гетерогенной, и способностью к адгезии обладает лишь часть клеток. Предполагается, что рецепторы (лектины) обладают широким спектром чувствительности.

Ключевые слова: *Calliphora vomitoria*, защитная реакция, гемоциты, фагоцитоз, инкапсуляция, распознавание.

Врожденная иммунная система, свойственная насекомым, состоит из двух основных компонентов. Гуморальная система обеспечивает выработку антибактериальных и антигрибковых белков клетками жирового тела и отчасти гемоцитами (Dunn, 1990; Cociancich et al., 1994; Chernysh et al., 1995, 2002; Hoffmann, 1995; Crowley, Houck, 2002). Клеточная иммунная защита представлена гемоцитами, фагоцитирующими и (или) инкапсулирующими проникших в организм бактерий, грибов и паразитов (Lavine, Strand, 2002; Strand, 2008). Эти же клетки принимают участие в элиминации апоптотных тканей, образующихся в процессе метаморфоза.

Известно очень немного о гемоцитарных рецепторах, вовлеченных в процесс распознавания как болезнетворных, так и просто чужеродных элементов. Прилипание эритроцитов позвоночных к гемоцитам насекомых *in vitro* в отсутствие гемолимфы наводит на мысль о наличии мембранных рецепторов, предположительно лектинов, участвующих в распознавании чужого (Richards, Ratcliffe, 1990). Кроме того, и лектины гемолимфы могут присоединяться к чужеродным частицам и действовать в качестве опсонин. У личинок *Calliphora vomitoria* лектины появляются в гемолимфе в конце III возраста, их количество резко увеличивается перед началом метаморфоза и падает почти до нуля после пупаризации (McKenzie, Preston, 1992b).

Подобная же динамика выявлена для нового лектина — гранулоцитина, обнаруженного в ядрах гемоцитов личинок другого вида мясных мух *Sarcophaga peregrina* (Stynen et al., 1985; Fujita et al., 1998). Этот лектин предположительно участвует в лизисе инъектированных в полость тела личинок эритроцитов (Komano, Natori, 1985). Как у *Calliphora*, так и у *Sarcophaga* основным местом локализации лектинов являются определенные типы гемоцитов. У *Calliphora* 80 % их активности сосредоточено во фракции плазматоцитов (McKenzie, Preston, 1992a), а у *Sarcophaga*, судя по флуоресцентным микрофотографиям, лектины также вырабатываются в плазматоцитах. Остальные типы клеток гемолимфы, а также жировое тело принимают в секретиции лектинов значительно меньшее участие. Способствовать адгезии чужеродных элементов может и широко известный белок прилипания 47 кДа, вырабатываемый некоторыми типами гемоцитов чешуекрылых и обеспечивающий их распластывание на предметном стекле (Marmaras, Charalambidis, 1992; Lavine, Strand, 2002). Предположительно он также является опсониноподобным веществом с широким спектром специфичности, участвующим в распознавании как бактериальных, так и других органических и неорганических мишеней.

В выработке иммунораспознающих веществ, опсонизирующих чужеродные частицы, важную роль играет профенолоксидазактивирующая система (Leonard et al., 1985; Gil-

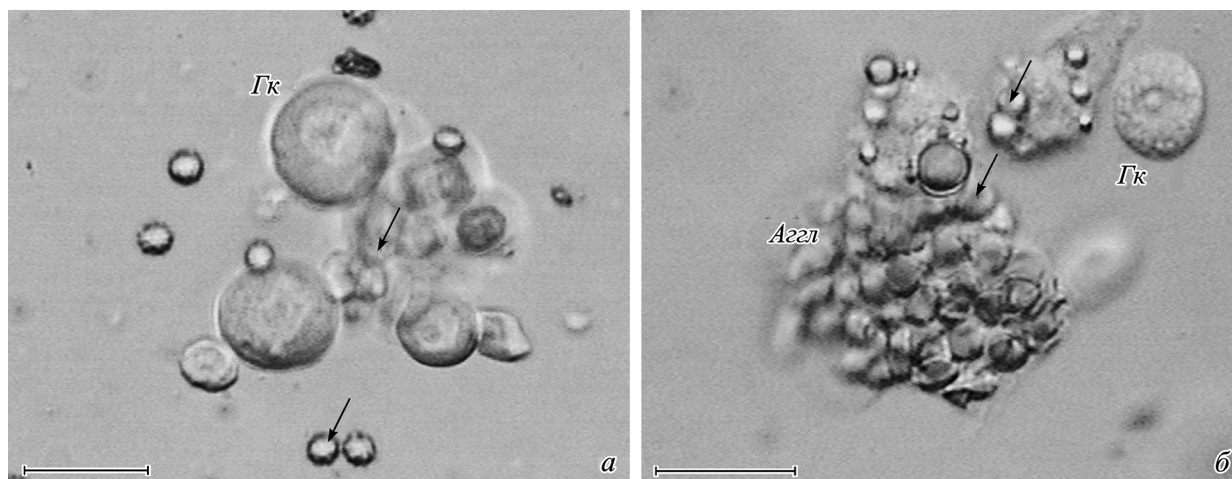


Рис. 1. Реакция гемоцитов кончающих питание личинок *Calliphora vomitoria* на инъекцию суспензии эритроцитов человека. Дифференциальный интерференционный контраст (ДИК) по Номарскому.

a — через 3 мин после инъекции: видны маленькая группа прогемоцитов, гиалиновые клетки и свободно лежащие эритроциты (одиночные стрелки); *б* — через 60 мин после инъекции: видны небольшой рыхлый агглютинат, эритроциты, прилипшие к тромбоцитиду, и одиночная гиалиновая клетка. Обозначения для всех рисунков: *Аггл* — тромбоцитидный агглютинат, *Гк* — гиалиновая клетка, *Нгк* — нестабильная гиалиновая клетка, *Пг* — прогемоциты, *Пл1* — плазматочит 1, *Юпл* — ювенильный плазматочит. Одиночные стрелки указывают на эритроциты, двойные стрелки — на частицы угля. Масштабные отрезки на всех рисунках — 20 мкм.

Iespie et al., 1997; Kurata, 2004). В секрети профенолоксидазы принимают участие также элементы гемоцитарной системы, а именно определенный тип энцитотидов, так называемые нестабильные гиалиновые клетки. Эти клетки выбрасывают содержимое цитоплазмы в гемолимфу в начале периода опустошения зоба. При всем сходстве в клеточном составе гемоцитов у разных видов мясных мух *C. vomitoria* отличается от ранее исследованного вида *C. vicina* определенными особенностями динамики гемоцитарной формулы (Кинд, 2007) и иммунного ответа (Кинд, 2010). Это наводит на мысль о возможности межвидового варьирования рецепторных реакций на чужеродные объекты, появившиеся в гемоцеле личинок мух. Поэтому в настоящей работе была сделана попытка сравнительного анализа рецептивности к биотическим и абиотическим чужеродным частицам у *C. vomitoria*, а также динамики фагоцитоза и адгезии частиц различными типами гемоцитов у этого вида.

Материал и методика

Для работы была использована поливольтинная бездиапаузная популяция *Calliphora vomitoria* английского происхождения. Личинок выращивали на свиных почках при 12 °С и 12-часовом световом дне. В этих условиях период питания продолжается 8 сут, опустошение зоба — 2 сут и период бродяжничества — 3 сут. После окончания питания личинки покидали мясо, начинали опустошать зоб и переходили к стадии бродяжничества и пупаризации. В личинок на различных этапах опустошения зоба и в первые дни после его полного очищения от остатков пищи с помощью тонкой инъекционной иглы вводили по 10 мкл суспензии эритроцитов с концентрацией 2000 или 8000 эр/мм³.

В качестве вторичной инъекции ранее инъецированным личинкам через 10, 30 и 120 мин после первой инъекции вводили по 10 мкл стерильной 2—5%-ной суспензии мелко растертого медицинского активированного угля с частицами величиной 0.1—1 мкм в физиологическом растворе (0.65 г NaCl, 0.014 г KCl, 0.012 г CaCl₂ и дистиллированная вода до 100 мл). В каждой серии использовали

по 50—100 особей. Через различное время после инъекции (от 3 мин до 4 ч) пробы гемолимфы исследовали под микроскопом с использованием дифференциально-интерференционного контраста (ДИК) по Номарскому и объектива 40×. Эта методика позволяет получить барельефные полихромные изображения клеток и ряда клеточных структур, включая ядра, ядрышки, вакуоли и катаболические включения. Она очень удобна для распознавания отдельных типов гемоцитов и для анализа их состояния в процессе функционирования. В каждом варианте использовали по 2 прижизненных временных препарата гемолимфы. Капли гемолимфы, взятые после прокола в передних сегментах 5 личинок, смешивали на предметном стекле и немедленно исследовали под микроскопом. Изображения монослоя гемоцитов были получены с использованием цифровой видеокамеры Digital CDSP, установленной на микроскопе Jenamed. Их обрабатывали с помощью программы iuVCR и редактировали в Adobe Photoshop (v. 7).

Результаты и обсуждение

Реакция на эритроциты. У личинок *C. vomitoria* III возраста в конце периода питания количество клеток гемолимфы невелико, они представлены в основном прогемоцитами и различного вида гиалиновыми клетками — нестабильными, которые быстро распадаются с выбросом профенолоксидазы в гемолимфу, и стабильными (протромбоцитоидами). Плазматочитов и тромбоцитов мало (Кинд, 2007). Поэтому вполне резонно предположить, что в этот период клеточная иммунная реакция еще не достигает максимального выражения. И действительно, в первые минуты после инъекции суспензии эритроцитов они не связываются никакими гемоцитарными элементами и свободно лежат в гемолимфе (рис. 1, *a*). И только через 0.5 ч становится заметным образование небольших агглютинатов, которые через 1 ч увеличиваются в размерах, и в их пределах происходят деформация отдельных красных кровяных клеток и распад их на фрагменты.

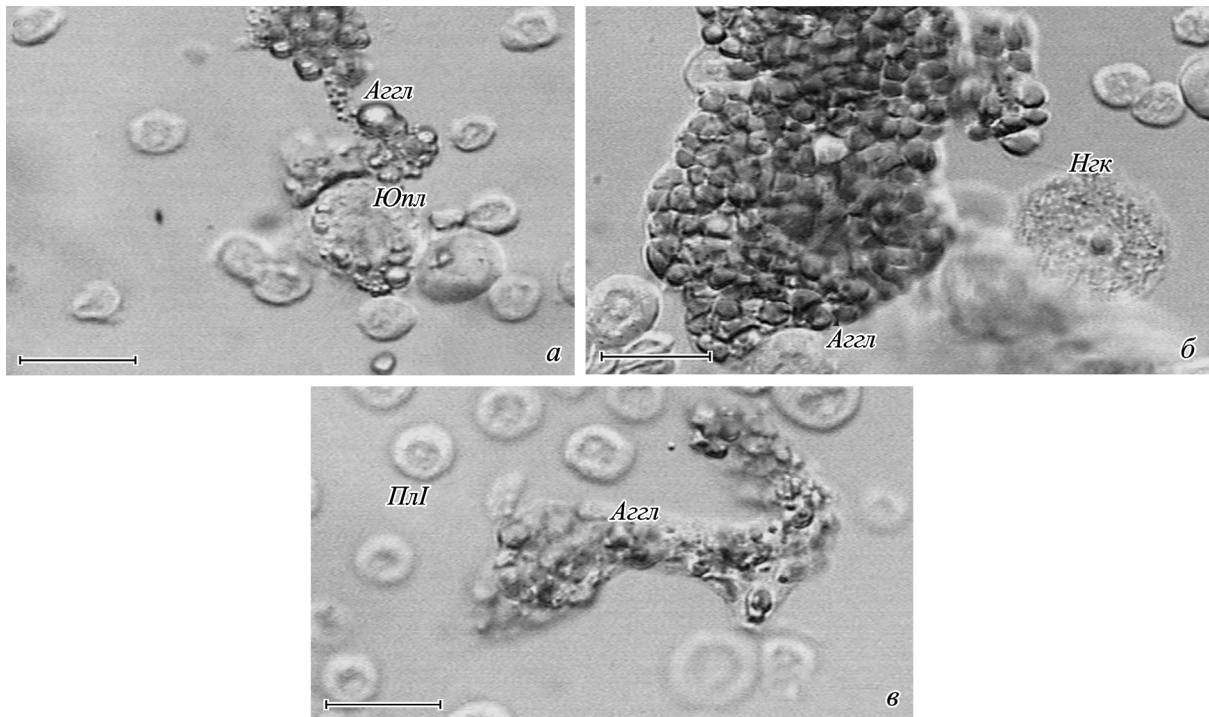


Рис. 2. Реакция гемоцитов наполовину опустошивших зоб личинок *Calliphora vomitoria* на инъекцию суспензии эритроцитов человека.

а — через 1 мин после инъекции: начало формирования тромбоцитозидного агглютината с эритроцитами; *б* — через 30 мин после инъекции: видны крупный агглютинат, плотно заполненный частично деструктурированными эритроцитами, и выбросившая содержимое нестабильная гиалиновая клетка; *в* — через 3 ч после инъекции: агглютинат приобрел вытянутую неправильную форму, признаки деструкции эритроцитов видны очень отчетливо.

С окончанием питания и переходом в фазу блуждающей личинки состояние гемолимфы кардинально меняется. Уменьшается количество гиалиновых клеток обоих типов, зато значительно возрастает доля ювенильных плазматоцитов, т. е. элементов, ответственных за защитную клеточную реакцию. Более того, увеличивается и их адгезивная активность по отношению к чужеродным частицам, в данном случае — к эритроцитам. В первую же минуту после инъекции их суспензии в личинок начинается агглютинация эритроцитов тромбоцитозидами и формируются агглютинаты, вначале рыхлые, а затем все более плотные и округлые (рис. 2, *а*, *б*). Через 10—15 мин к процессу подключаются и ювенильные плазматоциты, к поверхности которых прилипают отдельные эритроциты. События развиваются на первом этапе (в первые 1.5—2 ч) в сторону уплотнения агглютинатов, а затем — в сторону их разрыхления и образования сети тяжей, в которых лежат цепочки мало изменившихся эритроцитов.

При дальнейшем опустошении зоба личинок интенсивность реакции гемоцитов на появление эритроцитов остается на столь же высоком уровне. Помимо изоляции эритроцитов в тромбоцитозидных агглютинатах на более поздних этапах наблюдаются отчетливые картины деструкции эритроцитов с образованием либо плотных бесструктурных образований, либо групп фрагментов, особенно отчетливых по периферии агглютинатов (рис. 3). Через 2—3 ч после инъекции все эритроциты становятся в той или иной степени деструктурированными. Что касается ювенильных плазматоцитов, по их морфологии трудно с уверенностью сказать, принимают ли они участие в фагоцитозе эритроцитов или просто заполняются катаболическими включениями. После опустошения зоба харак-

тер и быстрота обволакивания эритроцитов тромбоцитозидами и последующая деструкция эритроцитов остаются неизменными. Но в это время в защитную реакцию включаются еще одни элементы — это плазматоциты I. Они нередко окружают заполненные эритроцитами агглютинаты и образуют вокруг них рыхлые капсулы. С течением времени (через 1—2 ч) агглютинаты становятся более мелкими, а плазматоциты увеличиваются в размерах и переполняются включениями, предположительно эритроцитного происхождения.

Таким образом, при подготовке к метаморфозу наблюдаются три тенденции в гемоцитарной защитной реакции *C. vomitoria*: 1) повышение геагглютинирующей активности тромбоцитозидов, 2) повышение уровня деструкции эритроцитов в агглютинатах и 3) смена популяции плазматоцитов и в результате замедление их фагоцитарной функции.

В отличие от *C. vicina*, у которой агглютинаты играют в основном изолирующую функцию и деструкция эритроцитов наблюдается большей частью в зонах контакта с ювенильными плазматоцитами, у *C. vomitoria* распад красных кровяных телец происходит еще до фагоцитоза. Таким образом, у *C. vomitoria* тромбоцитозиды являются значительно более агрессивными, чем у ранее исследованной *C. vicina*. Для другого вида мясных мух, *Sarcophaga peregrina*, было показано, что в лизисе эритроцитов принимают участие лектины (Komano, Natori, 1985), которые у *Calliphora* вырабатываются в основном не в тромбоцитозиде, а в плазматоците. Неизвестно, осуществляются ли агглютинация, фагоцитоз и деструкция эритроцитов одним или несколькими различными механизмами, однако дифференцированная реактивность ли-

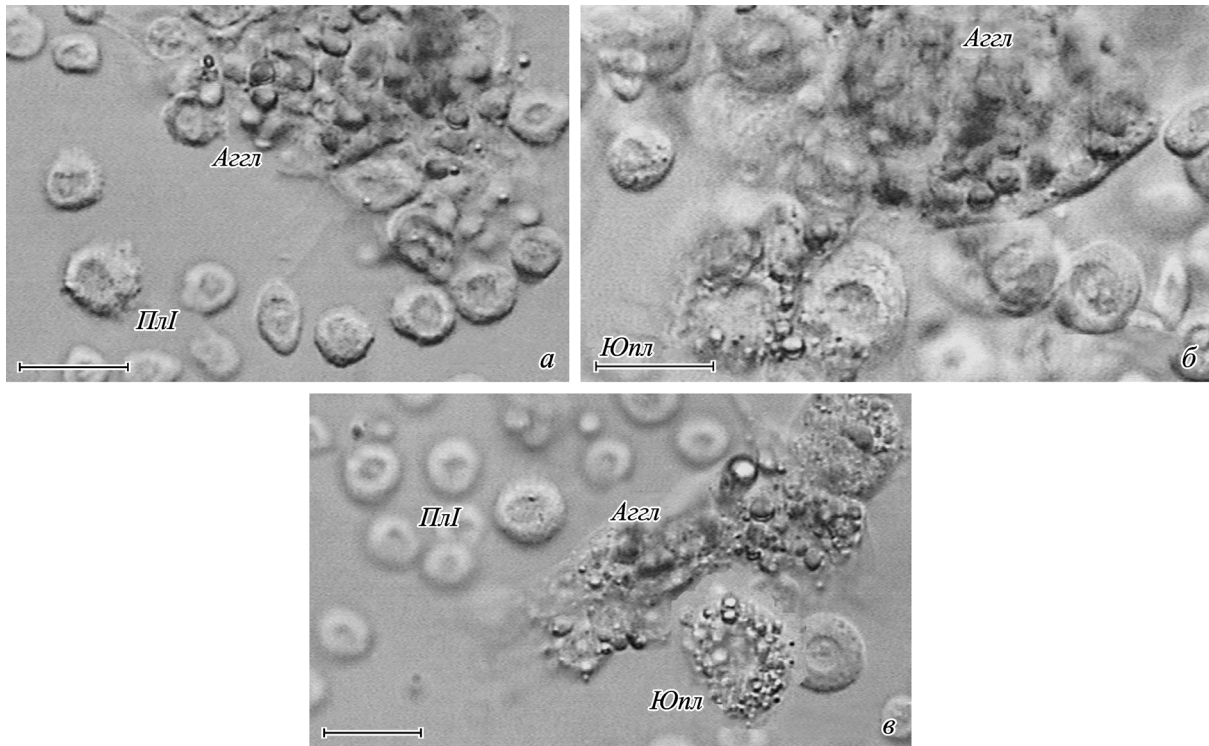


Рис. 3. Реакция гемоцитов почти опустошивших зоб личинок *Calliphora vomitoria* на инъекцию суспензии эритроцитов человека.

а — через 1 мин после инъекции: видны хорошо сформированный, но еще рыхлый агглютинат с эритроцитами и большое количество еще не дифференцированных плазматоцитов I. *б* — через 7 мин после инъекции: агглютинат полностью сформирован, округлой формы и с хорошо выраженной мембраной; в месте контакта с ювенильным плазматоцитом заметна деструкция эритроцитов. *в* — через 2 ч после инъекции: небольшой удлиненный агглютинат со слабо выраженной мембраной, рыхло заполненный эритроцитами; ювенильные плазматоциты плотно прилегают к агглютинату.

чинок на введение различных чужеродных элементов говорит в пользу сложности этого процесса.

Повышение рецептивности гемоцитов к эритроцитам происходит после прекращения питания, т. е. в момент, когда резко повышается концентрация лектинов в гемолимфе (Stynen et al., 1985; McKenzie, Preston, 1992b). В этот же период наблюдается значительное изменение гемоцитарной формулы, сопровождающееся выбросом профенолоксидазы из нестабильных гиалиновых клеток (Кинд, 2007). Профенолоксидазный каскад является необходимым составляющим элементом для синтеза лектинов (Leonard et al., 1985). Таким образом, выстраивается цепочка событий, приводящих к увеличению уровня реакции гемоцитов к чужеродным элементам, попавшим в гемоцель личинок.

Так как функциональная морфология гемоцитов, особенно тромбоцитоидных агглютинатов, значительно меняется в процессе реакции на чужеродные частицы (Кинд, 2005), было проведено исследование, помогающее выяснить, изменяется ли соответственно в процессе агглютинации рецептивность уже образовавшихся структур. Для этого на разных этапах формирования агглютинатов проводили дополнительную инъекцию абиотических частиц — угля.

Двойная реакция на эритроциты и частицы угля. Для анализа рецептивности тромбоцитоидных агглютинатов (и плазматоцитов) к дополнительной инъекции были выбраны 2 срока — через 20 мин после первичной инъекции, когда агглютинаты представляют собой округлые образования с четко выраженной мембраной, плотно заполненные эритроцитами, и через 2 ч после

первичной инъекции, в период разрыхления агглютинатов и образования тяжей. Пробы гемолимфы брали через 15—60 мин после вторичной инъекции.

На протяжении всего периода опустошения зоба динамика рецептивности тромбоцитоидных агглютинатов к вновь поступившим чужеродным частицам угля была практически идентичной. Через 10—15 мин частицы скапливались по периферии агглютинатов, а затем проникали вглубь и лежали вперемешку с эритроцитами (рис. 4). При этом не имело значения, на какой стадии формирования агглютинатов проводили вторичную инъекцию. Несмотря на заполненность эритроцитами и наличие плотной мембраны, агглютинаты таким образом сохраняли способность захватывать новые порции чужеродных частиц. Ювенильные плазматоциты, которые в значительном количестве присутствуют в гемолимфе на протяжении всего периода опустошения зоба, также быстро реагируют на появление частиц угля и адгезируют его по периферии на протяжении первых 15 мин, а через 1 ч заполняются практически полностью (рис. 4). Тромбоцитоиды вне зависимости от степени их сформированности поглощают уголь одинаково интенсивно. Поэтому можно сделать вывод о том, что изменение их формы, плотность мембраны и образование тяжей никак не связаны с рецептивностью, а играют какую-то иную, пока неизвестную функцию.

После опустошения зоба, с началом подготовки к метаморфозу, ювенильные плазматоциты заменяются плазматоцитами I. Соответственно изменяются и картины прилипания и поглощения эритроцитов и угля. И те и другие чужеродные частицы активно адгезируют как к аг-

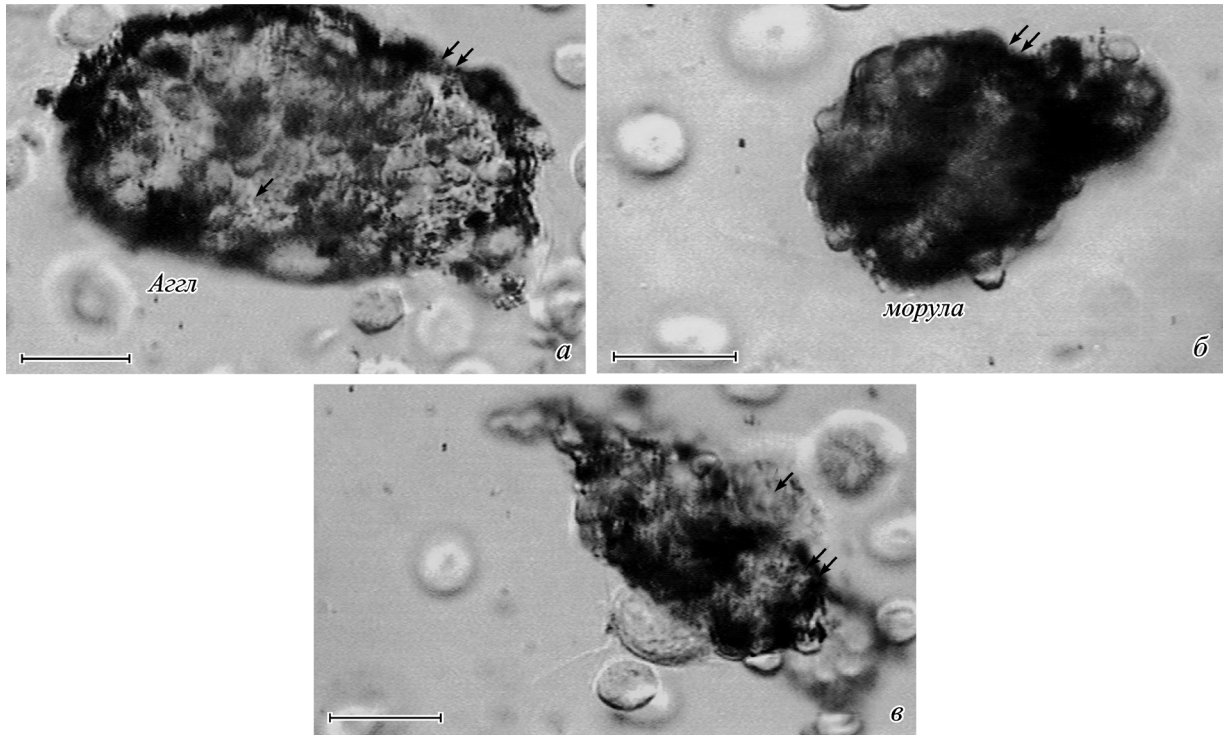


Рис. 4. Реакция гемоцитов у начавших опустошение зоба личинок *Calliphora vomitoria* на двойную инъекцию эритроцитов (8000 кл./мм³) и частиц угля.

а — через 15 мин после первичной инъекции и через 15 мин после вторичной инъекции: виден крупный округлый агглютинат, заполненный эритроцитами, к которому по периферии присоединились частицы угля; *б* — скопление плазматочитов, окруженных по периферии толстым слоем частиц угля (*морула*); *в* — через 2 ч после первичной инъекции и через 15 мин после вторичной инъекции: виден вытянутый рыхлый агглютинат с эритроцитами, окруженный примкнувшими частицами угля.

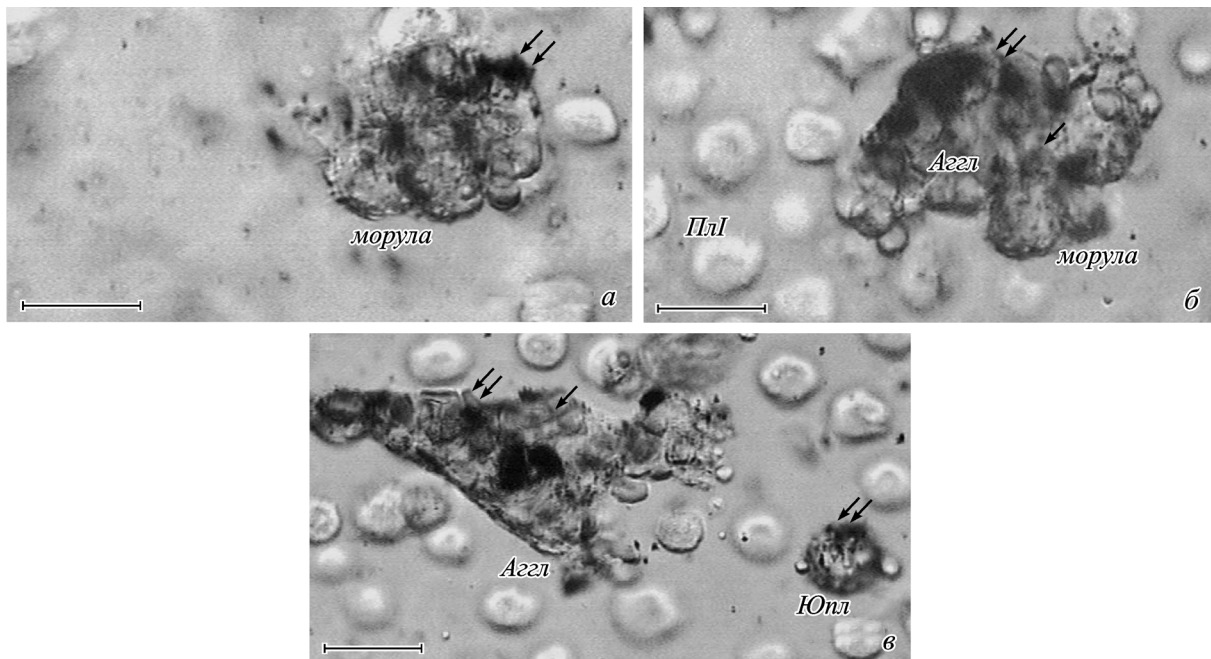


Рис. 5. Реакция гемоцитов у опустошивших зоб личинок *Calliphora vomitoria* на двойную инъекцию эритроцитов (8000 кл./мм³) и частиц угля.

а — через 15 мин после первичной инъекции и через 15 мин после вторичной инъекции; видна небольшая морула из плазматочитов I, покрытых тонким слоем угольных частиц. *б* — через 15 мин после первичной инъекции и через 1 ч после вторичной инъекции: агглютинат с эритроцитами и частицами угля, а также примыкающий к нему плазматочит, окруженный угольными частицами. *в* — через 2 ч после первичной инъекции и через 15 мин после вторичной инъекции: в рыхлом агглютинате неправильной формы располагаются вперемешку эритроциты частицы угля, заметен фагоцитоз угля плазматочитом I.

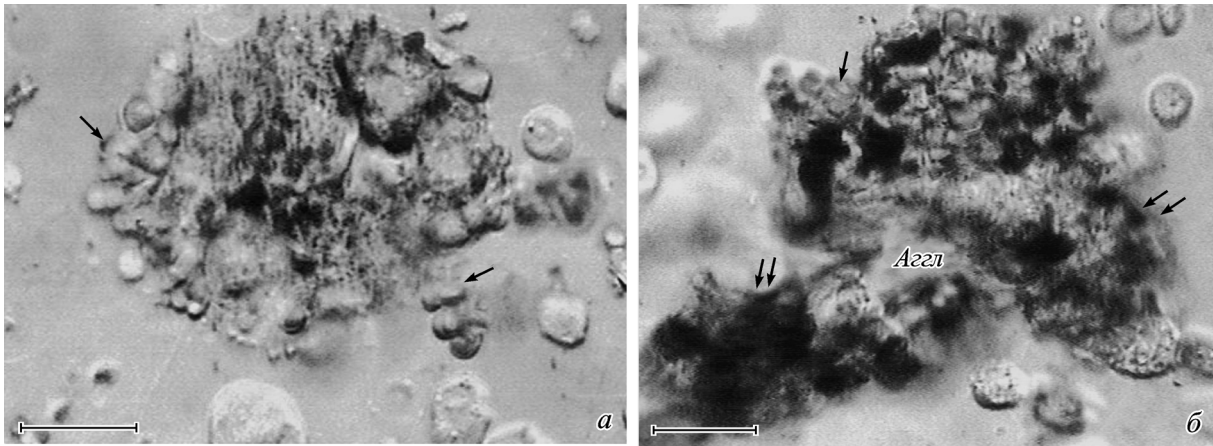


Рис. 6. Реакция гемоцитов у опустошивших зоб личинок *Calliphora vomitoria* на двойную инъекцию частиц угля и эритроцитов (8000 кл./мм³).

а — через 15 мин после первичной инъекции и через 30 мин после вторичной инъекции: довольно рыхлый агглютинат, в котором видны как частицы угля, так и эритроциты; *б* — через 1 мин после инъекции смеси эритроцитов и частиц угля: быстро сформировавшийся рыхлый агглютинат с лежащими вперемешку частицами.

глютинам, так и к плазматочитам. Но есть и специфические особенности. Во-первых, популяция плазматочитов I в отличие от ювенильных плазматочитов является гетерогенной, и в адгезии задействована только часть клеток (Кинд, 2010), т. е. им свойственна полифункциональность. И во-вторых, происходят образование морул из окруженных углем и деструктурированными эритроцитами плазматочитов I и включение подобных морул в состав агглютинатов. Таким путем образуются сложные многокомпонентные конгломераты (рис. 5; 6, *а*). Морулы являются специфическими образованиями, состоящими из группы клеток с адгезированными к их поверхности частицами угля. Они, судя по всему, являются аналогами нодул — небольших гемоцитарных скоплений, окружающих слипшиеся группы бактерий. У двукрылых нодулы обычно подвергаются меланизации (Lavine, Strand, 2002). В отличие от нодул морулы являются временными образованиями, прилипание к мембране плазматочитов угля не сопровождается последующим фагоцитозом. Продолжительность их существования не превышает 1 ч, и они не показывают никаких признаков меланизации.

Это говорит о том, что при подготовке к метаморфозу меняются как рецептивность плазматочитов и тромбоцитоподобных агглютинатов, так и хемотаксис гемоцитов и друг к другу, и к агглютинам, что приводит к образованию капсул, морул и конгломератов.

Реакция на инъекцию смеси эритроцитов и частиц угля. У исследованного нами ранее вида *C. vicina* было выявлено зональное расположение на тромбоцитоидах рецепторов, специфичных для эритроцитов и частиц угля. Для того чтобы определить, насколько близкие виды разнятся в этом отношении, в гемоцель личинок *C. vomitoria* были инъецированы суспензии эритроцитов и частиц угля, смешанные в разных пропорциях (2 : 1, 1 : 1 и 1 : 2). На всем протяжении периода опустошения зоба наблюдается очень близкая картина. В первые же минуты после инъекции частицы угля и эритроциты скапливаются вперемешку в маленьких агглютинатах. Соотношение элементов в инъекцируемой суспензии сохраняется и в агглютинатах, т. е. инъекция смеси с преобладанием эритроцитов приводит к образованию агглютинатов с большим количеством красных кровяных телец, и наоборот. Создается впечатление, что частицы угля не-

сколько медленнее связываются тромбоцитоподобными агглютинами, и только через 30 мин и более появляются в их цитоплазме в значительном количестве, зачастую маскируя эритроциты.

В отличие от *C. vicina* у *C. vomitoria* частицы всегда лежат вперемешку и никогда не образуют монокомпонентных зон (рис. 6, *б*). Поэтому можно предположить, что рецептивные зоны в тромбоцитоидах либо располагаются равномерно, либо одинаково чувствительны к биотическим и абиотическим инвайдерам. Ювенильные плазматочиты у опустошающих зоб личинок адгезируют на своей поверхности фрагменты разрушенных эритроцитов, а рецептивные плазматочиты I примыкают к агглютинатам и через 30—60 мин переполняются включениями. В то же время в связи с трудностью визуального различения фагоцитированных частей эритроцитов и катаболических включений можно отчетливо проследить только реакцию на частицы угля, которая начинается через 5 мин после инъекции вне зависимости от продолжительности предшествующего контакта с эритроцитами.

В заключение можно сказать, что в ответ на появление различных чужеродных элементов различные типы гемоцитов осуществляют свои специфические функции — фагоцитоз, агглютинацию, нодуляцию, секрецию медиаторов (фенолоксидазы и агглютининов). Специализация и кооперация гемоцитов вносят свой вклад в контроль над ситуацией, которая в ином случае могла бы быть летальной.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ 3332. 2010.4).

Список литературы

- Кинд Т. В. 2005. Агглютинация и фагоцитоз чужеродных абиотических 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*. Тр. БиНИИ СПбГУ. 53 : 306—335.

Kind T. B. 2010. Влияние иммунизации на активность иммуноцитов по отношению к чужеродным абиотическим частицам у личинок мясной мухи *Calliphora vomitoria*. Цитология. 52 (6) : 442—450.

Chernysh S. I., Kim S. I., Bekker G., Pleskach V. A., Filatova N. A., Anikin V. B., Platonov V. G., Bulet P. 2002. Antiviral and antitumor peptides from insects. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 99 : 12 628—12 632.

Chernysh S. I., Simonenko N. P., Braun F., Meister M. 1995. Developmental variability of the antibacterial response in larvae and pupae of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) and *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). Eur. J. Entomol. 92 : 203—209.

Cociancich S., Bulet P., Hetru V., Hoffmann J. A. 1994. The inducible antibacterial peptides of insects. Parasitol. Today. 10 : 132—139.

Crowley L. D., Houck M. A. 2002. The immune response of larvae and pupae of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) upon administered insult with *Escherichia coli*. J. Med. Entomol. 39 : 931—934.

Dunn P. E. 1990. Humoral immunity in insects. Bioscience. 40 : 738—744.

Fujita Y., Kurata S., Homma K., Natori S. 1998. A novel lectin from *Sarcophaga*. Its purification, characterization and cDNA cloning. J. Biol. Chem. 273 : 9667—9672.

Gillespie J. P., Kanost M. R., Trenczek T. 1997. Biological mediators of insect immunity. Ann. Rev. Entomol. 42 : 611—643.

Hoffmann J. A. 1995. Innate immunity of insects. Curr. Opin. Immunol. 7 : 4—10.

Komano H., Natori S. 1985. Participation of *Sarcophaga peregrina* humoral lectin in the lysis of sheep red blood cells injected in the abdominal cavity of larvae. Develop. Comp. Immunol. 9 : 31—40.

Kurata S. 2004. Recognition of infectious non-self and activation of immune responses by peptidoglycan recognition protein (PGRP)-family members in *Drosophila*. Develop. Comp. Immunol. 28 : 89—95.

Lavine M. D., Strand M. R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. 32 : 1295—1309.

Leonard V., Ratcliffe N. A., Rowley A. F. 1985. The role of phenoloxidase activation in non-self recognition and phagocytosis by insect blood cells. J. Insect Physiol. 31 : 789—799.

Marmaras V. J., Charalambidis N. 1992. Certain hemocyte proteins of the medfly, *Ceratitis capitata*, are responsible for non-self recognition and immobilization of *Escherichia coli in vitro*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 21 : 281—288.

McKenzie A. N., Preston T. M. 1992a. Functional studies on *Calliphora vomitoria* haemocyte subpopulations defined by lectin staining and density centrifugation. Develop. Comp. Immunol. 16 : 19—30.

McKenzie A. N., Preston T. M. 1992b. Biological characteristics of the *Calliphora vomitoria* agglutinin. Develop. Comp. Immunol. 16 : 85—93.

Richards E. H., Ratcliffe N. A. 1990. Direct binding and lectin-mediated binding of erythrocytes to hemocytes of the insect *Exotosoma tiaratum*. Develop. Comp. Immunol. 14 : 269—281.

Strand M. R. 2008. The insect cellular immune response. Insect Sci. 15 : 1—14.

Stynen D., Vansteenwegen K., De Loof A. 1985. Anti-galactose lectins in the haemolymph of *Sarcophaga bullata* and three other calliphorid flies. Comp. Biochem. Physiol. Part B. Comp. Biochem. 81 : 171—175.

Поступила 22 IX 2011

FUNCTIONS OF *CALLIPHORA VOMITOTIA* LARVAL HEMOCYTES IN RECOGNITION AND ELIMINATION FROM HEMOLYMPH HUMAN ERYTHROCYTES AND CHARCOAL PARTICLES

T. V. Kind

Biological Institute of St. Petersburg State University;
e-mail: tatiana.kind@mail.ru

Investigation of *Calliphora vomitotia* hemocyte defense reaction to human erythrocytes shows that erythrocytes are recognized mainly by thrombocytoids. Adhesion to plasmatocytes and subsequent phagocytosis also takes place, but in a less degree. Agglutination of erythrocytes by thrombocytoids is increased after feeding cessation and remains at a high level during all the period of crop emptying. Entrapped erythrocytes not later than after five to eight minutes show signs of destruction and disintegrate into fragments. Later structureless masses can arise. The results of secondary injections of charcoal particles reveal that both thrombocytoidal agglutinates and plasmatocytes can engulf additional abiotic invaders even after filling by erythrocytes. Meanwhile despite the changing morphology of agglutinates their capability to adhere new batches of aliens remains unchanged at enough high level. These agglutinates and plasmatocytes phagocytized the charcoal particles independently of previous erythrocyte exposition. Injection of charcoal and erythrocytes mixture leads to appearance of agglutinates with erythrocytes and charcoal mixed together. We guess that foreign receptors obtain wide spectrum of affinity to all kinds of invaders.

Key words: insects, *Calliphora vomitoria*, immunity, hemolymph, hemocytes, phagocytosis, encapsulation, recognition.