



<https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2026-18-1-30-40>  
<https://www.zoobank.org/References/609CC1F7-F8D5-4D34-A7C5-1486E6D9F57D>

УДК 594.381.5

## Общая характеристика популяционного состава клеток гемолимфы моллюсков *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Lymnaeidae)

А. А. Комиссаров<sup>1</sup>✉, М. К. Серебрякова<sup>1</sup>, С. В. Сенкевич<sup>1,2</sup>, А. С. Токмакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, наб. реки Мойки, д. 48, 191186, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, ул. Политехническая, д. 26, 194021, г. Санкт-Петербург, Россия

### Сведения об авторах

Комиссаров Андрей Алексеевич

E-mail: [tritonspanis@mail.ru](mailto:tritonspanis@mail.ru)

SPIN-код: 5607-5356

ORCID: 0009-0005-8919-3711

Серебрякова Мария

Константиновна

E-mail: [m-serebryakova@yandex.ru](mailto:m-serebryakova@yandex.ru)

SPIN-код: 3332-8732

Scopus Author ID: 56419783900

ResearcherID: AAK-8161-2020

ORCID: 0000-0003-2596-4220

Сенкевич Станислав Викторович

E-mail: [senkevichSV@mail.ioffe.ru](mailto:senkevichSV@mail.ioffe.ru)

SPIN-код: 2847-2790

Scopus Author ID: 25629811900

ResearcherID: E-7923-2014

ORCID: 0000-0002-4503-1412

Токмакова Арина Сергеевна

E-mail: [arina.tokmakova@gmail.com](mailto:arina.tokmakova@gmail.com)

SPIN-код: 8976-2758

Scopus Author ID: 55623548000

ResearcherID: O-1711-2017

ORCID: 0000-0003-3202-4827

**Аннотация.** Изучен клеточный состав гемолимфы легочных моллюсков *Lymnaea stagnalis*. На основании результатов световой, сканирующей электронной микроскопии и проточной цитометрии в гемолимфе выделены две функционально активные популяции клеток (гиалиноциты и гранулоциты), которые отличаются по морфологии, сложности цитоплазматического компартмента, а также по способности образовывать псевдоподии. Использование специфических флуоресцентных красителей и тактики последовательного гейтирования по параметрам светорассеяния и флуоресценции позволило определить в циркуляции субпопуляционный состав гемоцитов, характеризующихся разным уровнем метаболической активности.

**Права:** © Авторы (2026). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Ключевые слова:** *Lymnaea stagnalis*, легочные моллюски, гемоциты, гемолимфа, проточная цитометрия, клеточные популяции, LysoTracker, SYTO62, MitoTracker

# General characteristics of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Lymnaeidae) hemolymph cell population composition

A. A. Komissarov<sup>1</sup>✉, M. K. Serebriakova<sup>1</sup>, S. V. Senkevich<sup>1,2</sup>, A. S. Tokmakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., 191186, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Ioffe Physical-Technical Institute of the Russian Academy of Sciences, 26 Politechnicheskaya Str., 194021, Saint Petersburg, Russia

## Authors

Andrej A. Komissarov

E-mail: [tritonspanis@mail.ru](mailto:tritonspanis@mail.ru)

SPIN: 5607-5356

ORCID: 0009-0005-8919-3711

Maria K. Serebriakova

E-mail: [m-serebryakova@yandex.ru](mailto:m-serebryakova@yandex.ru)

SPIN: 3332-8732

Scopus Author ID: 56419783900

ResearcherID: AAK-8161-2020

ORCID: 0000-0003-2596-4220

Stanislav V. Senkevich

E-mail: [senkevichSV@mail.ioffe.ru](mailto:senkevichSV@mail.ioffe.ru)

SPIN: 2847-2790

Scopus Author ID: 25629811900

ResearcherID: E-7923-2014

ORCID: 0000-0002-4503-1412

Arina S. Tokmakova

E-mail: [arina.tokmakova@gmail.com](mailto:arina.tokmakova@gmail.com)

SPIN: 8976-2758

Scopus Author ID: 55623548000

ResearcherID: O-1711-2017

ORCID: 0000-0003-3202-4827

**Copyright:** © The Authors (2026).

Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** The paper discusses cellular composition of the hemolymph of the pulmonate mollusk *Lymnaea stagnalis*. Using light microscopy, scanning electron microscopy, and flow cytometry, we identified two functionally active cell populations in the hemolymph: hyalinocytes and granulocytes. These cells differ in morphology, cytoplasmic complexity, and pseudopodia formation. By employing specific fluorescent dyes and a sequential gating strategy based on light scattering and fluorescence parameters, we characterized the subpopulation composition of circulating hemocytes with distinct levels of metabolic activity.

**Keywords:** *Lymnaea stagnalis*, pulmonate mollusks, hemocytes, hemolymph, flow cytometry, cell populations, LysoTracker, SYTO62, MitoTracker

## Введение

Сведения о клеточном составе гемолимфы моллюсков представляют большой интерес при проведении физиологических исследований этих животных. Особое значение эта информация имеет для изучения иммунных реакций моллюсков, так как циркулирующие клетки — гемоциты — являются ключевым звеном защитных реакций (Coustau et al. 2015; Ribeiro et al. 2017; Ataev et al. 2020; Alba, Gourbal 2023; и др.). Эти клетки уничтожают внутриклеточные патогены и внеклеточных паразитов путем фагоцитоза, инкапсуляции, продукции активных форм азота и кислорода (Humphries, Yoshino 2008; Dinguirard et al. 2018; Vorontsova et al. 2019; Skála et al. 2020; Hambrook et al. 2020; Alba, Gourbal 2023; Ataev et al. 2024; и др.).

В большинстве работ у pulmonat выделяют два типа клеток гемолимфы — гранулоциты и гиалиноциты (Cheng 1975; Ataev et al. 2016; 2024; Pila et al. 2016; Prokhorova et al. 2018; Tokmakova et al. 2020), — различающиеся по морфологии, способности образовывать псевдоподии, фагоцитарной активности, а также соотношению в кровотоке.

Одной из широко используемых моделей в физиологических исследованиях являются брюхоногие моллюски семейства Lymnaeidae (Kuroda, Abe 2020; Santovito et al. 2023; Harracksingh et al. 2024; Fodor et al. 2025; Hollings, Lukowiak 2025; Rivi et al. 2025; и др.). Объектом нашего исследования стали широко распространенные в природе улитки *Lymnaea stagnalis*.

Различные классификации циркулирующих клеток гемолимфы моллюсков

основаны главным образом на ультраструктурных и морфологических особенностях, биохимических маркерах, информация о которых получена с помощью световой и электронной микроскопии (Ataev et al. 2016; Boisseaux et al. 2016; Pila et al. 2016; Prokhorova et al. 2018; Tokmakova et al. 2020; Zhang et al. 2021; Kajino et al. 2022; и др.), проточной цитометрии (Martins-Souza et al. 2009; Cueto et al. 2015; Boisseaux et al. 2016; Ataev et al. 2016; Prokhorova et al. 2018; Tokmakova et al. 2020; Kajino et al. 2022), центрифугирования (Adema et al. 1994), изучения функциональной активности клеток (Cheng 1984; Cueto et al. 2015), анализа транскриптомов (Pichon et al. 2022).

Цель нашего исследования заключается в комплексном анализе популяционного состава клеток гемолимфы моллюсков *L. stagnalis* с применением проточной цитофлуориметрии, световой и электронной микроскопии.

### Материалы и методы

В работе использовались моллюски *Lymnaea stagnalis* Linnaeus, 1758 (n = 100). Сбор моллюсков осуществлялся в 2024–2025 гг. в реке Оредеж в районе пос. Вырица Ленинградской области (59°24'52" с. ш., 30°18'45" в. д.) и в Финском заливе на территории пос. Лисий Нос Курортного района Санкт-Петербурга (60°0'7" с. ш., 30°0'13" в. д.).

В лабораторных условиях моллюски содержались в 5–10-литровых аквариумах с аэрируемой водой при температуре 22–25 °С. Смена воды производилась 2–3 раза в неделю. В качестве корма использовались свежие листья салата.

Зараженность улиток предварительно определялась по эмиссии церкарий и уточнялась при вскрытии моллюсков после забора гемолимфы. Для анализа использовалась гемолимфа незараженных моллюсков. Метод сбора основан на особенностях кровеносной системы *L. stagnalis* (Lever, Bekius 1965). При резком втягивания тела моллюска в раковину осуществляется вы-

брос гемолимфы через гемальную пору и далее через пневмостом во внешнюю среду. Забор гемолимфы осуществлялся с помощью автоматического дозатора при провоцировании сокращения.

Микроскопический анализ клеток осуществлялся на мазках свежесобранной гемолимфы, нанесенных на стекла с адгезивным полилизинным покрытием. Инкубация гемолимфы проводилась в течение 20–25 мин во влажной камере при комнатной температуре. Препараты изучались на микроскопе Nikon E200 в режиме фазового контраста (PH) и Leica DM 5000 в режиме дифференциально-интерференционного контраста (DIC).

Для получения постоянных препаратов производилась фиксация мазков 4%-ным раствором параформальдегида (PFA), приготовленным на 1x PBS буфере (pH 7,4). Окраска осуществлялась по методике Май-Грюнвальда — Гимзы (MGG) с использованием коммерческого набора (Bio-vitrum, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

СЭМ анализ гемоцитов проводили на мазках свежесобранной гемолимфы, которую предварительно инкубировали на покровных стеклах с адгезивным покрытием во влажной камере в течение 30 мин. Клетки фиксировали 4%-ным PFA. После промывки от фиксатора буфером препараты обезживали в спиртах (этанол) восходящей концентрации (начиная с 20%). Все последующие операции по высушиванию объектов проводили в устройстве для сушки образцов в критической точке Leica EM CPD300. После напыления препараты изучали на микроскопе Zeiss EVO 40 междисциплинарного ресурсного центра коллективного использования РГПУ им. А. И. Герцена «Современные физико-химические методы формирования и исследования материалов для нужд промышленности, науки и образования».

Цитофлуориметрический анализ проводился непосредственно после забора гемолимфы. Популяции гемоцитов выделялись на основании значений прямого

(FSC) и бокового (SSC) светорассеяния, характеризующих соответственно размер и сложность структуры клеток. Доля каждой популяции выражалась в процентах от общего числа одиночных гемцитов.

Для окраски лизосом использовался флуоресцентный краситель LysoTracker™ Green DND-26 (Thermo Fisher Scientific, США), проникающий через плазматическую мембрану и накапливающийся в клеточных компартментах с  $pH < 6$ . Краситель вносили в образцы гемолимфы в конечной концентрации 100 нМ.

Для специфической окраски митохондрий применялся флуоресцентный краситель MitoTracker™ Red CMXRos (Thermo Fisher Scientific, США), который проникает в интактные клетки, где связывается с митохондриальными липидами и белками (Buravkov et al. 2014) потенциал-зависимым образом (Pendergrass et al. 2004). Краситель вносили в образцы гемолимфы в конечной концентрации 200 нМ.

Для специфической окраски нуклеиновых кислот использовался витальный краситель SYTO™62 (Thermo Fisher Scientific, США), проникающий через мембраны живых клеток и связывающийся в них с нуклеиновыми кислотами. Краситель вносили в образцы гемолимфы в конечной концентрации 250 нМ.

После внесения специфических красителей пробы инкубировались в темноте 10 мин, после чего проводился анализ на проточном цитометре. Для каждой популяции гемцитов определялась интенсивность флуоресценции каждого красителя.

Для определения доли нежизнеспособных клеток к образцу добавлялся раствор йодистого пропидия (PI) в конечной концентрации 5 мкг/мл.

Анализ образцов выполнялся на проточном цитометре BD Accuri™ C6 (BD Biosciences, США). В каждой пробе анализировали не менее 50 мкл гемолимфы. Анализ образцов производился для каждой особи отдельно, пулирование образцов гемолимфы не производилось.

Обработку результатов проводили в программном обеспечении Kaluza™ v.2.0

(Beckman Coulter, США), FlowJo™\_v.10.10.0 (BD Bioscience, США), NIS-Elements (Nikon, Япония), ImageScope (Leica, Германия).

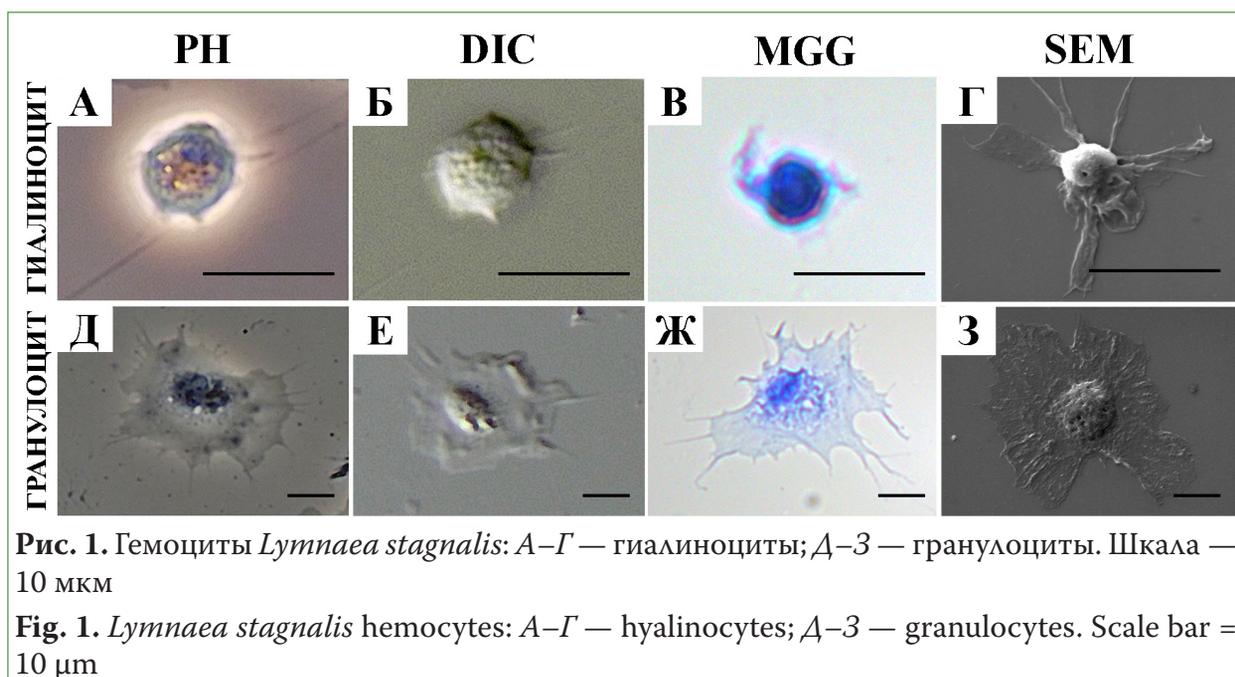
Статистическую обработку и оформление графического материала проводили с использованием программ MS Excel (Microsoft, США), GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software Inc, США). Нормальность распределения в полученных выборках оценивали при помощи критерия Колмогорова — Смирнова. Результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25, Q75). Множественные сравнения популяций проводили при помощи теста Краскела — Уоллиса с последующим парным сравнением по методу Данна.

## Результаты и обсуждение

### Морфологический анализ

При микроскопическом изучении гемолимфы *L. stagnalis* выявлено два основных морфотипа клеток, отличающихся по морфометрическим характеристикам, наличию гранул и вакуолей в цитоплазме и способности к образованию псевдоподий. Первый тип — гиалиноциты — малогранулярные или негранулярные клетки, образующие небольшое количество коротких псевдоподий (рис. 1 А–Г). Для клеток этого типа характерно высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение. Средний размер клеток этого типа составляет  $8,36 \pm 1,67 \times 9,40 \pm 1,80$  мкм; округлые ядра имеют средний размер  $3,68 \pm 0,96 \times 4,51 \pm 1,10$  мкм. Для гиалиноцитов характерна слабая способность к адгезии на субстрате.

Второй тип — гранулоциты — представлен крупными клетками, формирующими большое количество псевдоподий (рис. 1 Д–З) и содержащими в цитоплазме гранулы и везикулы. Гранулоциты обладают хорошей способностью к адгезии, распластываются на поверхности субстрата и активно передвигаются с помощью псевдоподий. В отличие от гиалиноцитов, которые имеют в основном округлую форму, внешний вид гранулоцитов очень вариабелен. Гранулоциты имеют средний размер



19,16±4,73 × 35,90±5,79 мкм, диаметр ядра составляет 7,66±1,51 × 12,41±2,20 мкм.

На окрашенных мазках гемолимфы *L. stagnalis* с использованием коммерческого набора MGG ядра и цитоплазма гемоцитов обоих типов окрашиваются базофильно. В гранулоцитах при этом хорошо видны многочисленные гранулы и везикулы (рис. 1 Ж).

Гиалиноциты на окрашенных и СЭМ препаратах встречаются редко. Эти клетки могут формировать короткие уплощенные псевдоподии или филоподии (рис. 1 Г), которые малозаметны при использовании методов световой микроскопии.

Наши результаты подтвердили предположения Коневой с соавторами о наличии в гемолимфе *L. stagnalis* двух основных популяций, которые различаются по уровню ядерно-цитоплазматического соотношения (Конева et al. 2006). Эти авторы также отмечают, что соотношение клеточных типов сохраняется на разных этапах онтогенеза.

В то же время Стадниченко с коллегами выделила у *L. stagnalis* три типа гемоцитов, являющихся разными стадиями дифференцировки адвентициальных клеток мезенхимальной природы (Stadnychenko et al. 1981). Согласно предложенной этими авторами классификации, клетки отлича-

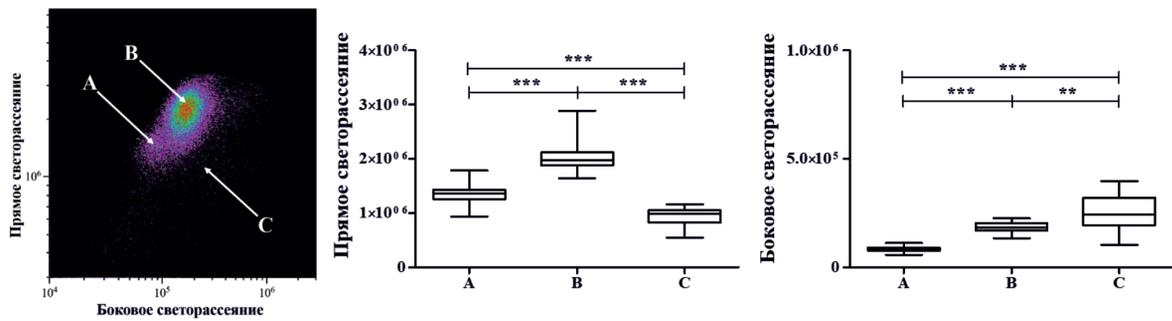
ются по содержанию гранул и везикул в цитоплазме, а также по способности к делению: прогемоциты, эозинофильные и базофильные гранулоциты.

Отличные от предыдущих предположений результаты опубликовали Сминия и Барендсен, которые на основе морфологических и гистохимических исследований выделили у *L. stagnalis* всего один тип гемоцитов — амебоциты (Sminia, Varensen 1980). Они предположили, что клетки гемолимфы представляют собой морфологически и функционально гетерогенную, но единую популяцию клеток, включающую округлые бластоподобные клетки, а также клетки с высоким уровнем фагоцитарной активности и большим количеством лизосом.

Согласно литературным данным, количество основных популяций гемоцитов отличается у разных видов лимнеид. Например, у *L. truncatula* описано две популяции (Monteil, Matricon-Gondran 1993), а у *L. palustris* и *L. natalensis* — три популяции (Russo, Lagadic 2000; El-Sayed et al. 2014).

#### Цитометрический анализ

При использовании метода проточной цитометрии показано, что у разных особей *L. stagnalis* на гистограммах, отражающих распределение по параметрам FSC и SSC,



**Рис. 2.** Выделение популяций гемоцитов на основании параметров прямого и бокового светорассеяния и значения данных параметров для разных популяций гемоцитов

**Fig. 2.** Gating strategy for the analysis of hemocyte populations based on forward and side scattering parameters, showing the values of these parameters for different hemocyte populations

гемоциты могут формировать одну компактную популяцию или две отдельные (рис. 2).

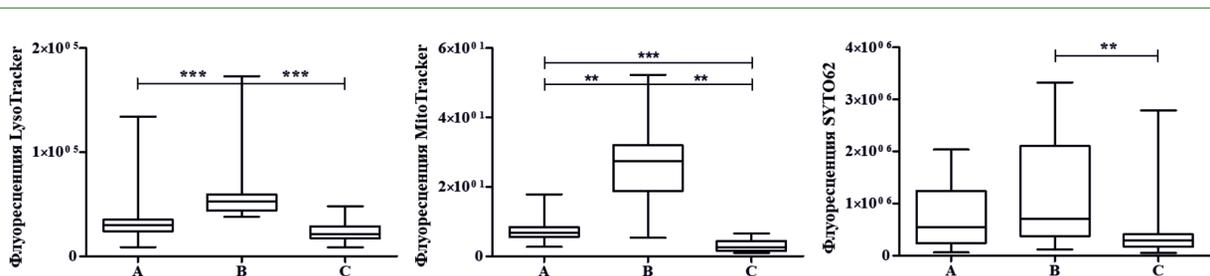
Единая популяция гемоцитов наблюдалась примерно у 40 % особей. У 60 % животных выделены две популяции. Популяция А содержала клетки с относительно низкими значениями FSC и SSC, а популяция В — с высокими значениями данных параметров. Отдельно выделялась популяция клеток С, не попадающих в популяции А и В.

Описанные популяции достоверно отличались друг от друга по размеру и сложности организации составляющих их гемоцитов и присутствовали в циркуляции *L. stagnalis* в следующих долях: популяция А — 16,73 % (8,37; 29,31), популяция В — 76,67 % (61,43; 88,32) и популяция С — 3,82 % (2,73; 6,80). При этом необходимо отметить, что 75,59 % (66,20; 80,08) клеток в популяции С окрашивались PI, что свидетельствует о нарушении целостности их

плазматической мембраны. Данное свойство является характерным для поздних стадий клеточной гибели.

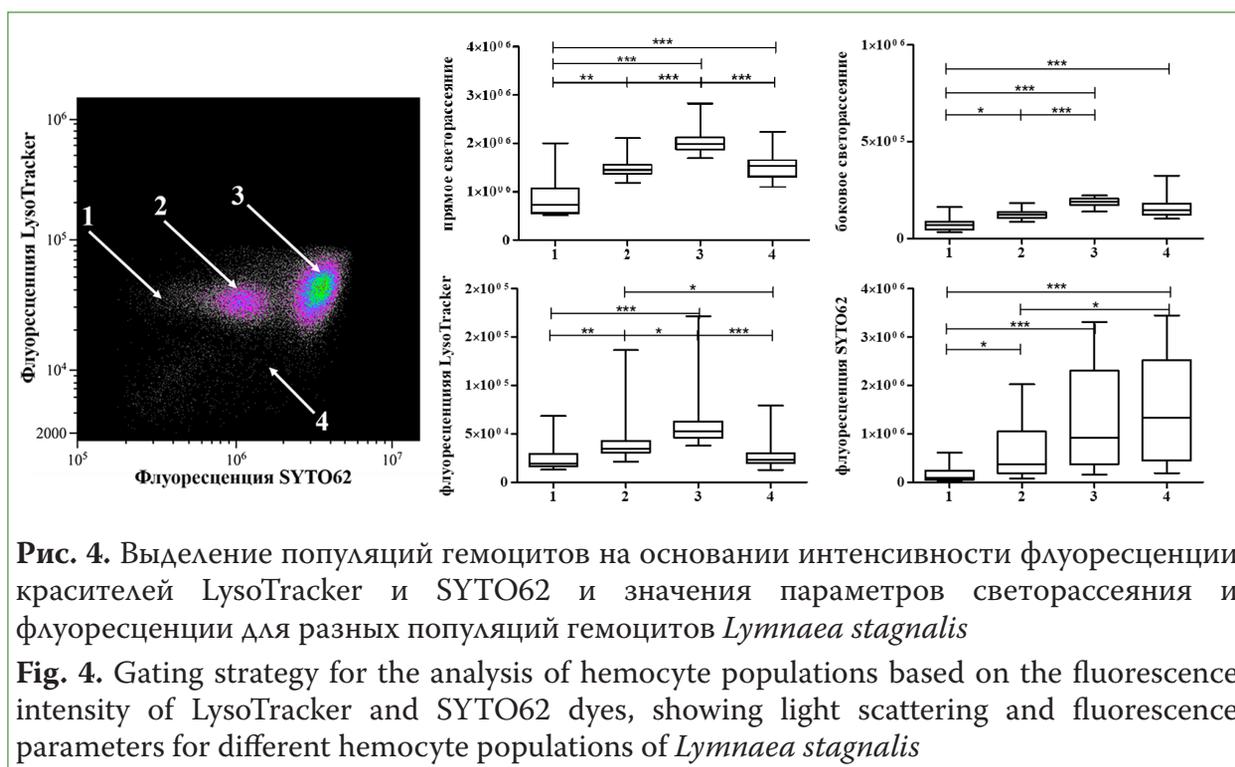
Полученные данные о наличии в циркуляции двух основных популяций гемоцитов сходны с выделяемыми ранее типами гемоцитов *L. stagnalis* (Dikkeboom et al. 1988). В своей классификации авторы использовали моноклональные антитела (LS1) в качестве клеточного маркера для проточной цитометрии.

Окраска флуоресцентными зондами также демонстрирует различия между популяциями гемоцитов (рис. 3). Так, интенсивность флуоресценции лизосомального зонда достоверно выше в клетках популяции В, что свидетельствует о большем количестве в них лизосом. Различия в степени накопления красителей, ассоциированных с митохондриями и нуклеиновыми кислотами, может указывать на различия в метаболизме клеток разных популяций.



**Рис. 3.** Интенсивность флуоресценции красителей в разных популяциях гемоцитов *Lymnaea stagnalis*. А — LysoTracker; В — MitoTracker; С — SYTO62

**Fig. 3.** Fluorescence intensity of dyes in different hemocytes populations of *Lymnaea stagnalis*. А — LysoTracker; В — MitoTracker; С — Syto62



**Рис. 4.** Выделение популяций гемоцитов на основании интенсивности флуоресценции красителей LysoTracker и SYTO62 и значения параметров светорассеяния и флуоресценции для разных популяций гемоцитов *Lymnaea stagnalis*

**Fig. 4.** Gating strategy for the analysis of hemocyte populations based on the fluorescence intensity of LysoTracker and SYTO62 dyes, showing light scattering and fluorescence parameters for different hemocyte populations of *Lymnaea stagnalis*

Максимальное накопление этих красителей также отмечено для гемоцитов популяции В.

В то же время сочетание нескольких флуоресцентных зондов в одном образце позволяет выделять разные субпопуляции гемоцитов по морфологическим и функциональным особенностям. В частности, по оценке накопления лизосомального и нуклеинового красителей ранее была изучена гемолимфа гастропод *Planorbarius corneus* и *Viviparus viviparus* (Serebryakova et al. 2022; Serebriakova et al. 2024).

Результаты изучения гемолимфы *L. stagnalis* с помощью такого подхода позволили нам выделить 4 субпопуляции гемоцитов, отличающиеся по параметрам флуоресценции и светорассеяния (рис. 4).

Субпопуляция 1 содержит клетки, слабо накапливающие SYTO62 и LysoTracker и имеющие наименьшие значения светорассеяния. Это относительно небольшие клетки с простой структурой, имеющие в своем составе минимальное количество нуклеиновых кислот и не содержащие лизосом.

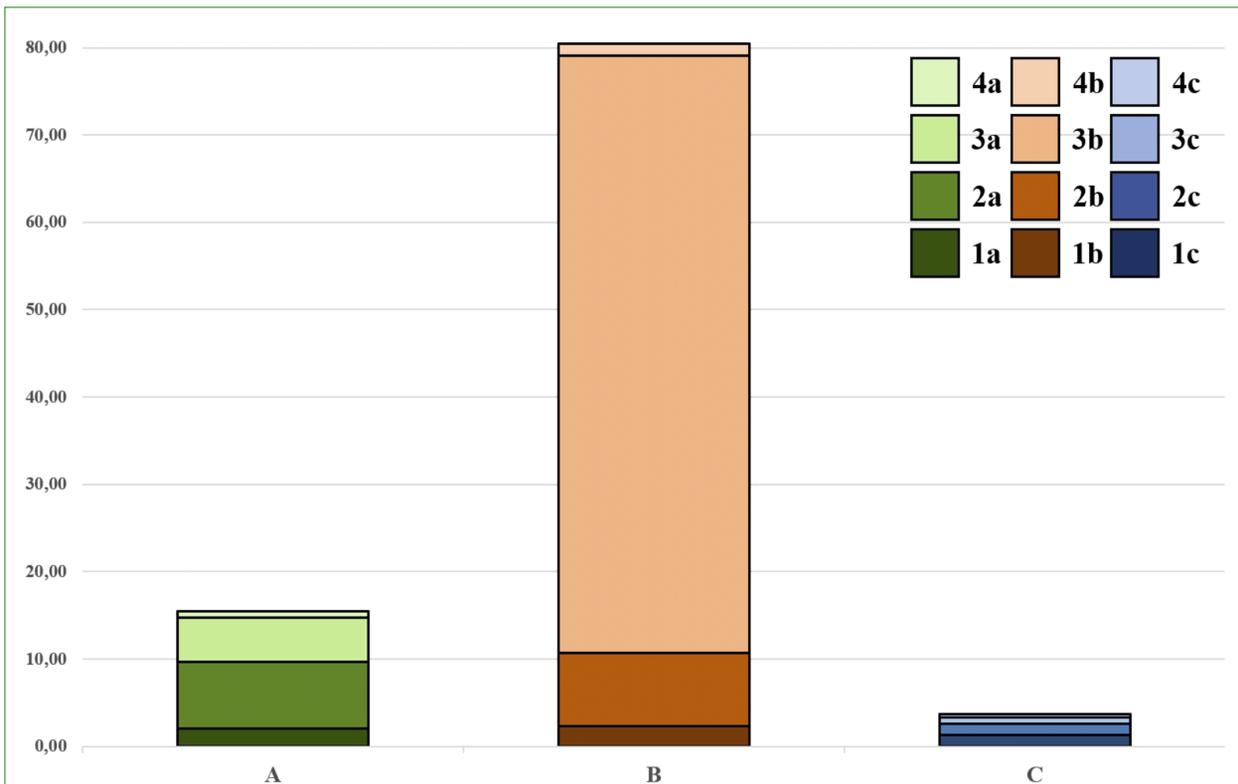
Клетки 2-й субпопуляции имеют достоверно более высокие показатели светорассеяния и флуоресценции, чем гемоциты субпопуляции 1, что может свидетельство-

вать о более высоком уровне метаболической активности этих клеток.

Клетки субпопуляции 3 лучше всего накапливают LysoTracker и SYTO62, а также имеют максимальные уровни светорассеяния по сравнению с другими клетками. Это крупные клетки со сложной структурой цитоплазматического компартмента и высокой метаболической активностью, содержащие большое количество включений, имеющих  $pH < 6$ .

Клетки субпопуляции 4 демонстрируют наименьший уровень накопления LysoTracker и значительную гетерогенность флуоресценции SYTO62. Значения показателей последнего варьируют в диапазоне от среднего до максимально высокого. При этом FSC в этих клетках не отличается достоверно от субпопуляции 2, а SSC лежит в области промежуточных значений. Это мелкие клетки со сложной структурой, высоким уровнем доступных к связыванию нуклеиновых кислот и отсутствием кислых гранул в цитоплазме. По уровню SSC и флуоресценции SYTO62 эти клетки достоверно не отличаются от клеток субпопуляции 3.

В циркуляции описанные субпопуляции клеток присутствуют в следующих долях: субпопуляция 1 — 2,65 % (1,83; 4,66), суб-



**Рис. 5.** Субпопуляционный состав циркулирующих гемоцитов *Lymnaea stagnalis*. Данные представлены в процентах от общего числа одиночных циркулирующих гемоцитов, как среднее арифметическое по каждой субпопуляции

**Fig. 5.** Subpopulation composition of circulating hemocytes in *Lymnaea stagnalis*. Data are presented as the arithmetic mean percentage of each subpopulation relative to the total number of single circulating hemocytes

популяция 2 — 13,55 % (7,12; 24,87), субпопуляция 3 — 78,15 % (71,33; 86,23) и субпопуляция 4 — 1,13 % (0,83; 3,72).

При этом использование тактики последовательного гейтирования сначала по параметрам светорассеяния, а затем по параметрам флуоресценции позволяет определить субпопуляционный состав гемоцитов (рис. 5).

Видно, что популяция А представлена в большей степени гемоцитами субпопуляций 2а и 3а. Их доля от числа всех гемоцитов этой популяции составляет 35,24 % (24,74; 60,57) и 29,41 % (13,51; 50,94) соответственно, а еще 13,56 % (6,76; 23,35) представлены клетками субпопуляции 1а. В популяции В большую часть гемоцитов составляет субпопуляция 3b — 90,26 % (85,82; 92,86); 6,36 % (4,13; 12,23) — субпопуляция 2b. Субпопуляции 1b и 4b составляют вместе примерно 3 % от числа клеток данной популяции. Популяция С представлена

почти поровну субпопуляциями 1с, 2с и 3с (32,16 % (25,65; 40,71), 33,43 % (30,93; 37,90) и 24,28 % (16,51; 27,30) соответственно). Субпопуляция 4с составляет только 4,77 % (2,69; 9,88) от всех гемоцитов данной популяции.

### Заключение

Морфологическое исследование клеток гемолимфы моллюсков *L. stagnalis* позволило выявить у них две основные популяции гемоцитов — гиалиноциты и гранулоциты. Данные цитометрического анализа подтвердили результаты микроскопического изучения. Популяции гемоцитов отличаются по морфологии, способности к адгезии, сложности организации составляющих их клеток и метаболической активности. На основании данных проточной цитометрии также установлено, что гиалиноциты и гранулоциты присутствуют в циркуляции в различных соотношениях.

Помимо двух основных типов гемоцитов, выделена малоклеточная популяция С, вероятно, представленная клетками, находящимися на поздних стадиях апоптоза.

Использование нескольких флуоресцентных зондов в одном образце позволило, в свою очередь, определить разные субпопуляции гемоцитов на основании не только морфологических, но и функциональных особенностей. При оценке накопления лизосомального (LysoTracker) и нуклеинового (SYTO62) красителей описано четыре субпопуляции гемоцитов, отличающиеся по уровню их накопления, что свидетельствует о разном уровне метаболической активности этих клеток.

Таким образом, проточная цитометрия

не только подтвердила данные микроскопического изучения о наличии в гемолимфе двух основных типов клеток гемолимфы *L. stagnalis*, но и позволила выявить их внутреннюю неоднородность — наличие субпопуляций с различной метаболической активностью. Это доказывает функциональную гетерогенность гемоцитов и важность комплексного подхода к их анализу.

### Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта, направленного на проведение исследований в рамках основных научных направлений педагогическим составом Герценовского университета № 42–ВГ.

### References

- Adema, C. M., van Deutekom-Mulder, E. C., van der Knaap, W. P. W., Sminia, T. (1994) Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* haemocytes: The role of oxygen radicals. *Parasitology*, vol. 109, no. 4, pp. 479–485. <https://www.doi.org/10.1017/s0031182000080732> (In English)
- Alba, A., Gourbal, B. (2023) Biology of the Lymnaeidae — parasite interaction. In: M. V. Vinarski, A. A. Vázquez (eds.). *The Lymnaeidae*. Cham: Springer Publ., pp. 285–329. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-30292-3\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-031-30292-3_11) (In English)
- Ataev, G. L., Prokhorova, E. E., Tokmakova, A. S. (2020) Defense reactions of pulmonate molluscs during parasitic invasion. *Parazitologiya*, vol. 54, no. 5, pp. 371–401. <https://doi.org/10.31857/S1234567806050028> (In Russian)
- Ataev, G. L., Prokhorova, E. E., Tokmakova, A. S. (2024) Immunity of gastropods and bivalves. *Amurian Zoological Journal*, vol. 16, no. 3, suppl., 74 p. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2024-16-3-s> (In Russian)
- Ataev, G. L., Prokhorova, E. E., Kudryavtsev, I. V., Polevshchikov, A. V. (2016) The influence of trematode infection on the hemocyte composition in *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Invertebrate Survival Journal*, vol. 13, no. 1, pp. 164–171. <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v13i1.164-171> (In English)
- Boisseaux, P., Delignette-Muller, M.-L., Abbaci, K. et al. (2016) Analysis of hemocytes in *Lymnaea stagnalis*: Characterization and effects of repeated hemolymph collections. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 57, pp. 116–126. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.007> (In English)
- Buravkov, S. V., Pogodina, M. V., Buravkova, L. B. (2014) Comparison of mitochondrial fluorescent dyes in stromal cells. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 157, no. 5, pp. 654–658. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2637-3> (In English)
- Cheng, T. C. (1975) Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 266, no. 1, pp. 343–379. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1975.tb35116.x> (In English)
- Cheng, T. C. (1984) A classification of molluscan hemocytes based on functional evidences. In: *Invertebrate blood*. Boston: Springer Publ., pp. 111–146. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4766-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4766-8_5) (In English)
- Coustau, C., Gourbal, B., Duval, D. et al. (2015) Advances in gastropod immunity from the study of the interaction between the snail *Biomphalaria glabrata* and its parasites: A review of research progress over the last decade. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 46, no. 1, pp. 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.01.036> (In English)
- Cueto, J. A., Rodriguez, C., Vega, I. A., Castro-Vazquez, A. (2015) Immune defenses of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae): Phagocytic hemocytes in the circulation and the kidney. *PLoS One*, vol. 10, no. 4, article e0123964. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123964> (In English)
- Dikkeboom, R., van der Knaap, W. P. W., van den Bovenkamp, W. et al. (1988) The production of toxic oxygen metabolites by hemocytes of different snail species. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 12, no. 3, pp. 509–520. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(88\)90068-7](https://doi.org/10.1016/0145-305x(88)90068-7) (In English)

- Dinguirard, N., Cavalcanti, M. G. S., Wu, X.-J. et al. (2018) Proteomic analysis of *Biomphalaria glabrata* hemocytes during *in vitro* encapsulation of *Schistosoma mansoni* sporocysts. *Frontiers in Immunology*, vol. 9, article 2773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02773> (In English)
- El-Sayed, K. A., El-Din, A.-H. S., Gad El-Karim, R. M. (2014) A comparative study of haemocytes from resistant and susceptible *Lymnaea natalensis* snails exposed to *Fasciola gigantica* miracidia. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, vol. 44, no. 3, pp. 653–660. <https://doi.org/10.12816/0007868> (In English)
- Fodor, I., Schmidt, J., Svigruha, R. et al. (2025) Chronic tributyltin exposure induces metabolic disruption in an invertebrate model animal, *Lymnaea stagnalis*. *Aquatic Toxicology*, vol. 284, article 107404. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2025.107404> (In English)
- Hambrook, J. R., Gharamah, A. A., Pila, E. A. et al. (2020) *Biomphalaria glabrata* granulins increase resistance to *Schistosoma mansoni* infection in several *Biomphalaria* species and induces the production of reactive oxygen species by haemocytes. *Genes*, vol. 11, no. 1, article 38. <https://doi.org/10.3390/genes11010038> (In English)
- Harracksingh, A. N., Bandura, J., Morizumi, T. et al. (2024) Functional characterization of optic photoreception in *Lymnaea stagnalis*. *PLoS One*, vol. 19, no. 11, article e0313407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313407> (In English)
- Hollings, J., Lukowiak, K. (2025) Not too different: *Wild Lymnaea* learning at the pondside and in the lab. *Journal of Comparative Physiology A*. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00359-025-01774-1> (accessed 01.11.2025). (In English)
- Humphries, J. E., Yoshino, T. P. (2008) Regulation of hydrogen peroxide release in circulating hemocytes of the planorbid snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 32, no. 5, pp. 554–562. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.09.001> (In English)
- Kajino, N., Choi, K.-S., Hong, H.-K. (2022) Flow cytometric characterization of the hemocytes of sea hares from tidal pools in Jeju Island off the south coast of Korea. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 122, pp. 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.02.026> (In English)
- Koneva, O. Iu., Afonin, V. Iu., Dromashko, S. E. (2006) The age-related changes in hemolymph cellular composition and in the spectrum of cytomorphological traits of hemocyte genetic damages in snail *Lymnaea stagnalis*. *Tsitologiya i genetika*, vol. 40, no. 6, pp. 21–27. (In Russian)
- Kuroda, R., Abe, M. (2020) The pond snail *Lymnaea stagnalis*. *EvoDevo*, vol. 11, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1186/s13227-020-00169-4> (In English)
- Lever, J., Bekius, R. (1965) On the presence of an external hemal pore in *Lymnaea stagnalis* L. *Experientia*, vol. 21, no. 7, pp. 395–396. <https://doi.org/10.1007/BF02139763> (In English)
- Martins-Souza, R. L., Pereira, C. A. J., Coelho, P. M. Z. et al. (2009) Flow cytometry analysis of the circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* following *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitology*, vol. 136, no. 1, pp. 67–76. <https://doi.org/10.1017/S0031182008005155> (In English)
- Monteil, J.-F., Matricon-Gondran, M. (1993) Structural and cytochemical study of the hemocytes in normal and trematode-infected *Lymnaea truncatula*. *Parasitology Research*, vol. 79, no. 8, pp. 675–682. <https://doi.org/10.1007/BF00932510> (In English)
- Pendergrass, W., Wolf, N., Poot, M. (2004) Efficacy of MitoTracker Green™ and CMXRosamine to measure changes in mitochondrial membrane potentials in living cells and tissues. *Cytometry A*, vol. 61-A, no. 2, pp. 162–169. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20033> (In English)
- Pichon, R., Pinaud, S., Vignal, E. et al. (2022) Single cell RNA sequencing reveals hemocyte heterogeneity in *Biomphalaria glabrata*: Plasticity over diversity. *Frontiers in Immunology*, vol. 13, article 956871. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.956871> (In English)
- Pila, E. A., Sullivan, J. T., Wu, X. Z. et al. (2016) Haemopoiesis in molluscs: A review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 58, pp. 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.11.010> (In English)
- Prokhorova, E. E., Serebryakova, M. S., Tokmakova, A. S. et al. (2018) The analysis of cell composition in the hemolymph of three Planorbidae species (Gastropoda: Pulmonata). *Invertebrate Zoology*, vol. 15, no. 1, pp. 103–113. <https://doi.org/10.15298/invertzool.15.1.08> (In English)
- Ribeiro, V. M. A., Coaglio, A. L., Oliveira, F. L. P. et al. (2017) Dynamics of haemocytes from *Pseudosuccinea columella* circulating infected by *Fasciola hepatica*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 26, no. 4, pp. 411–418. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017057> (In English)
- Rivi, V., Fodor, I., Batabyal, A. et al. (2025) Effects of the inhibition of miRNA biogenesis in the central ring ganglia of a widely used invertebrate model species, *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, vol. 297, article 110291. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2025.110291> (In English)

- Russo, J., Lagadic, L. (2000) Effects of parasitism and pesticide exposure on characteristics and functions of hemocyte populations in the freshwater snail *Lymnaea palustris* (Gastropoda, Pulmonata). *Cell Biology and Toxicology*, vol. 16, no. 1, pp. 15–30. <https://doi.org/10.1023/a:1007640519746> (In English)
- Santovito, A., Pappalardo, A., Nota, A. et al. (2023) *Lymnaea stagnalis* and *Ophryotrocha diadema* as model organisms for studying genotoxicological and physiological effects of benzophenone-3. *Toxics*, vol. 11, no. 10, article 827. <https://doi.org/10.3390/toxics11100827> (In English)
- Serebriakova, M. K., Sakhabeev, R. G., Tokmakova, A. S. (2024) Cellular composition of the hemolymph of *Viviparus viviparus* molluscs (Gastropoda: Prosobranchia). *Amurian Zoological Journal*, vol. 16, no. 2, pp. 284–293. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2024-16-2-284-293> (In Russian)
- Serebryakova, M. K., Tokmakova, A. S., Prokhorova, E. E., Ataev, G. L. (2022) Changes in the cell composition of the hemolymph in the snail *Planorbarius corneus* after infection with the trematode *Plagiorchis* sp. *Invertebrate Biology*, vol. 141, no. 4, article e12389. <https://doi.org/10.1111/ivb.12389> (In English)
- Skála, V., Walker, A. J., Horák, P. (2020) Snail defence responses to parasite infection: The *Lymnaea stagnalis-Trichobilharzia szidati* model. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 102, article 103464. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103464> (In English)
- Sminia, T., Barendsen, L. (1980) A comparative morphological and enzyme histochemical study on blood cells of the freshwater snails *Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Bulinus truncatus*. *Journal of Morphology*, vol. 165, no. 1, pp. 31–39. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051650104> (In English)
- Stadnychenko, A. P., Ivanenko, L. D., Kolosenko, N. A. et al. (1981) Pathological and morphological changes in cellular elements of haemolymph of freshwater pulmonata and prosobranchia (Mollusca) during their infection with partenites of trematodes. *Parazitologiya*, vol. 15, no. 5, pp. 407–414. (In Russian)
- Tokmakova, A. S., Serebryakova, M. K., Prokhorova, E. E., Ataev, G. L. (2020). Study of the proliferative activity of hemolymph cells in pulmonate molluscs. *Invertebrate Survival Journal*, vol. 17, no. 1, pp. 63–74. <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v0i0.63-74> (In English)
- Vorontsova, Y. L., Slepneva, I. A., Yurlova, N. I. et al. (2019) The effect of trematode infection on the markers of oxidative stress in the offspring of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Parasitology Research*, vol. 118, no. 12, pp. 3561–3564. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06494-5> (In English)
- Zhang, Y., Xu, S., Jiang, N. et al. (2021) Morphology and activities of cell populations of haemocytes in *Oncomelania hupensis* following *Schistosoma japonicum* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 181, article 107590. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107590> (In English)

**Для цитирования:** Комиссаров, А. А., Серебрякова, М. К., Сенкевич, С. В., Токмакова, А. С. (2026) Общая характеристика популяционного состава клеток гемолимфы моллюсков *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Lymnaeidae). *Амурский зоологический журнал*, т. XVIII, № 1, с. 30–40. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2026-18-1-30-40>

**Получена** 19 ноября 2025; прошла рецензирование 8 декабря 2025; принята 18 декабря 2025.

**For citation:** Komissarov, A. A., Serebriakova, M. K., Senkevich, S. V., Tokmakova, A. S. (2026) General characteristics of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Lymnaeidae) hemolymph cell population composition. *Amurian Zoological Journal*, vol. XVIII, no. 1, pp. 30–40. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2026-18-1-30-40>

**Received** 19 November 2025; reviewed 8 December 2025; accepted 18 December 2025.