



<https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2024-16-2-284-293>

<http://zoobank.org/References/2AC9335D-3455-422A-B071-57EFB65B6A2B>

УДК 594.32

Клеточный состав гемолимфы моллюсков *Viviparus viviparus* (Gastropoda: Prosobranchia)

М. К. Серебрякова¹, Р. Г. Сахабеев², А. С. Токмакова¹✉

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

² Санкт-Петербургский государственный технологический институт, Московский пр., д. 24–26/49, литера А, 190013, г. Санкт-Петербург, Россия

Сведения об авторах

Серебрякова Мария Константиновна

E-mail: m-serebryakova@yandex.ru

SPIN-код: 3332-8732

Scopus Author ID: 56419783900

ResearcherID: AAK-8161-2020

ORCID: 0000-0003-2596-4220

Сахабеев Родион Григорьевич

E-mail: helm505@mail.ru

SPIN-код: 3823-5948

Scopus Author ID: 57194687442

ResearcherID: P-6333-2017

ORCID: 0000-0002-4367-4924

Токмакова Арина Сергеевна

E-mail: arina.tokmakova@gmail.com

SPIN-код: 8976-2758

Scopus Author ID: 55623548000

ResearcherID: O-1711-2017

ORCID: 0000-0003-3202-4827

Права: © Авторы (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Изучен клеточный состав гемолимфы переднежаберных моллюсков *Viviparus viviparus*. На основании результатов морфометрического и цитофлуориметрического анализа в гемолимфе выделены две функционально активные популяции клеток, которые отличаются размерами и сложностью цитоплазматического компартмента, а также по способности образовывать псевдоподии. Кроме основных, выявлена переходная популяция, которая представлена клетками, находящимися на разных этапах созревания и специализации. Высказано предположение о наличии у *V. viviparus* одной линии дифференцировки клеток гемолимфы.

Ключевые слова: *Viviparus viviparus*, гемоциты, проточная цитофлуориметрия, жизнеспособность гемоцитов

Cellular composition of the hemolymph of *Viviparus viviparus* molluscs (Gastropoda: Prosobranchia)

M. K. Serebriakova¹, R. G. Sakhabeev², A. S. Tokmakova¹✉

¹ Russian State Pedagogical University named after. A. I. Herzen, 48 Moika Embankment, 191186, St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg State Institute of Technology, Moskovsky Prospekt, 24-26/49 litera A, 190013, St. Petersburg, Russia

Authors

Maria K. Serebriakova

E-mail: m-serebryakova@yandex.ru

SPIN: 3332-8732

Scopus Author ID: 56419783900

ResearcherID: AAK-8161-2020

ORCID: 0000-0003-2596-4220

Rodion G. Sakhabeev

E-mail: helm505@mail.ru

SPIN: 3823-5948

Scopus Author ID: 57194687442

ResearcherID: P-6333-2017

ORCID: 0000-0002-4367-4924

Arina S. Tokmakova

E-mail: arina.tokmakova@gmail.com

SPIN: 8976-2758

Scopus Author ID: 55623548000

ResearcherID: O-1711-2017

ORCID: 0000-0003-3202-4827

Copyright: © The Authors (2024). 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 prosobranch mollusc *Viviparus viviparus*. The morphometric and cytofluorimetric analysis of the hemolymph identified two functionally active populations of cells. They differ by cell size, the ability to form pseudopodia and the complexity of the cytoplasmic compartment. In addition to the two main ones, a transitional population was identified. It is represented by cells at different stages of maturation and specialization. It has been suggested that prosobranch *V. viviparus* have one line of differentiation of hemolymph cells.

Keywords: *Viviparus viviparus*, hemocytes, flow cytometry, hemocyte viability

Введение

В последнее время заметно увеличился интерес к изучению гемолимфы брюхоногих моллюсков. Во многом это обусловлено комплексным изучением различных компонентов их внутренней среды, которые являются маркерами физиологического состояния моллюсков. Кроме этого, именно в гемолимфе находятся главные эффекторные элементы защитной системы моллюсков — гемоциты.

Наиболее изученными среди гастропод являются лёгочные моллюски, однако и для них вопрос о клеточном составе гемолимфы во многом остается дискуссионным (Атаев и др. 2020; 2023). Но еще более дефицитна информация о клеточном иммунитете прозобранхий (особенно пресноводных) (Ottaviani 1989; Ottaviani et al. 1992; Ray et al. 2013; Suwannatrai et al. 2019; 2020). Наше исследование посвящено анализу клеточного состава гемолимфы лужанки *Viviparus viviparus* из природных популяций с использованием методов микроскопии и точной цитофлуориметрии.

Материалы и методы

В работе использовались переднежаберные моллюски *Viviparus viviparus*, L., 1758 (Viviparidae) (n = 100). Сбор моллюсков осуществлялся в 2015 и 2021 гг. в реке Оредеж в районе пос. Вырица Ленинградской области и в 2022–2023 гг. в Финском заливе на территории пос. Лисий Нос Курортного района Санкт-Петербурга.

В лабораторных условиях моллюски содержались в 5–10-литровых аквариумах с аэрируемой водой, песчаным грунтом, при комнатной температуре (20–25°C). Режим освещения составил 12:12. Самцы и самки лужанок содержались отдельно. Вода сменялась 2–3 раза в неделю. Корм улиток состоял из предварительно размоченных сушеных ивовых листьев.

Зараженность улиток предварительно определялась по эмиссии церкарий и уточнялась при вскрытии после забора гемолимфы. Для анализа гемоцитов использовали гемолимфу незараженных моллюсков.

Забор гемолимфы осуществляли из перикарда улиток. Для этого удаляли край последнего оборота раковины и, придерживая моллюска за крышечку, вводили в перикард стеклянную пипетку Пастера. Объем гемолимфы, собранный от одного моллюска, варьировал в зависимости от размера и пола моллюсков и составлял в среднем 250 мкл.

Приготовление постоянных цитологических препаратов осуществлялось путем изготовления мазков свежесобранной гемолимфы на предметных стеклах с адгезивным полилизинным покрытием. Затем проводили инкубацию гемолимфы в течение 30 мин во влажной камере при комнатной температуре. Мазки фиксировали 4%-ным параформальдегидом, приготовленным на 1x PBS буфере (pH 7,4). После промывки от фиксатора тем же буфером препараты окрашивали флуоресцентными красителями Rhodamine phalloidin (594 нм) и Hoechst 33342 (465 нм). Препараты изучали на микроскопе Leica DMi8 в режиме флуоресценции.

Цитофлуориметрический анализ проводили непосредственно после забора гемолимфы. Для оценки жизнеспособности клеток к цельной гемолимфе добавляли раствор йодистого пропидия (PI) в финальной концентрации 5 мкг/мл. Анализ образцов выполнялся непосредственно после их окрашивания на проточных цитофлуориметрах Accuri™ C6 (BD Biosciences, США), Navios (Beckman Coulter, США) и CytoFlex (Beckman Coulter, США). При этом оценивали параметры прямого (FSC, пропорционально размеру клетки) и бокового (SSC, характеризует сложность структуры клетки, в частности гранулярность цитоплазмы) светорассеяния и интенсивность флуоресценции PI. В каждой пробе анализировали не менее 50 мкл гемолимфы. Анализ образцов производился для каждой особи отдельно, пулирование образцов гемолимфы не производилось.

Распределение гемоцитов по параметрам прямого и бокового светорассеяния было сходным на всех цитограммах, полученных с помощью разных проточных ци-

тометров (рис. 1). Это позволило объединить полученные данные за все годы при расчете относительного числа гемоцитов разных популяций и уровня их жизнеспособности. Для расчета числовых значений прямого и бокового светорассеяния, характерных для гемоцитов разных популяций,

использовали только данные, полученные в 2015 г. с использованием проточного цитометра Accuri C6. Это объясняется несовместимостью числовых значений одних и тех же параметров у разных приборов, а также особенностями режима их технического обслуживания.

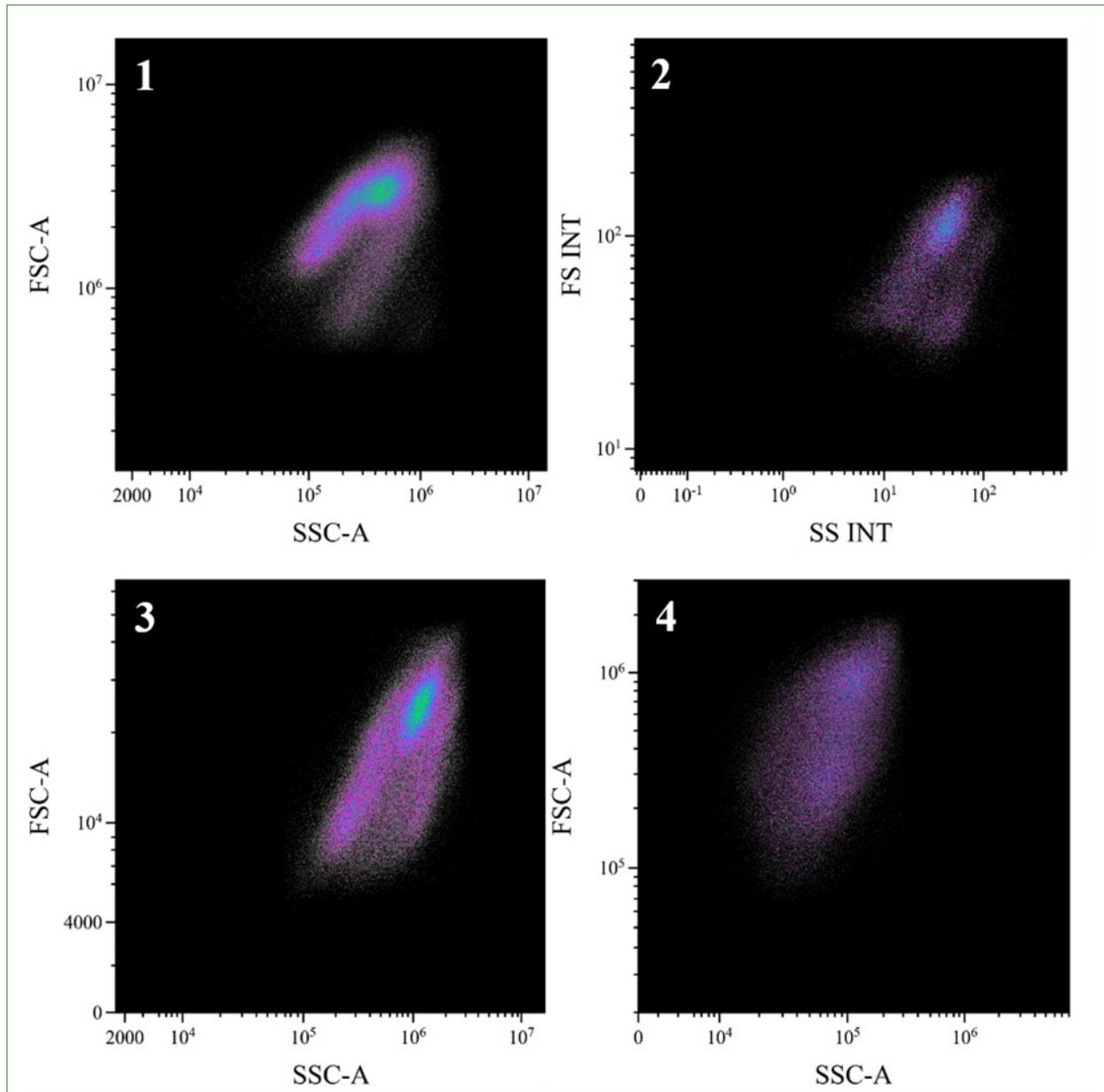


Рис. 1. Гистограммы распределения гемоцитов по показателям прямого и бокового светорассеяния, полученные в разные годы с разных проточных цитометров. 1 – Accuri C6 (2015 г.), 2 – Navios (2021 г.), 3 – CytoFlex (2021 г.), 4 – Accuri C6 (2023 г.). По оси X – интегральный сигнал бокового светорассеяния (side scattering, SSC, SS), по оси Y – интегральный сигнал прямого светорассеяния (forward scattering, FSC, FS).

Fig. 1. The histograms of hemocyte distribution according to forward and side light scattering, obtained in different years from different flow cytometers. 1 – Accuri C6 (2015), 2 – Navios (2021), 3 – CytoFlex (2021), 4 – Accuri C6 (2023). X – integrated side scattering signal (side scattering, SSC, SS), Y – integrated forward scattering signal (forward scattering, FSC, FS)

Обработку результатов проводили в программном обеспечении Kaluza™ v.2.0 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку проводили в пакетах программ MS Excel (Microsoft, США) и 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). Для сравнения парных количественных значений использовали непараметрический критерий Манна — Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты и обсуждение

Морфологический анализ показал вариабельность циркулирующих клеток *V. viviparus*. Гемоциты отличаются по размерам, способности образовывать псевдоподии разного типа, наличию гранул и вакуолей в цитоплазме и др.

В результате микроскопического анализа было выявлено три основных морфологических типа клеток (рис. 2). Клетки первого типа отличаются мелкими размерами — в среднем 6,7 мкм (5,7; 7,6) × 6,1 мкм (5,2; 7,1), отсутствием псевдоподий, гранул и вакуолей в цитоплазме. Их ядро имеет

округлую форму диаметром 4,0 мкм (3,4; 4,4) × 2,8 мкм (2,6; 3,7).

Второй тип объединяет гемоциты, наиболее вариабельные по морфологическим характеристикам. Они могут образовывать псевдоподии разной формы, в их цитоплазме заметны небольшие гранулы и везикулы. Размеры клеток этого типа составляют в среднем 8,7 мкм (7,7; 10,0) × 7,1 мкм (6,5; 8,3). Размеры их округлых ядер составляют в среднем 4,9 мкм (4,1; 5,7) × 4,0 мкм (3,4; 4,9).

Третий тип гемоцитов представлен самыми крупными клетками. У них хорошо выражена способность распластываться на субстрате, формируя длинные и многочисленные псевдоподии. Размер клеток без учета псевдоподий составляет в среднем 18,6 мкм (14,3; 21,5) × 11,6 мкм (9,5; 13,2). В цитоплазме содержится большое количество вакуолей. Овальное ядро имеет размеры 8,9 мкм (7,9; 11,7) × 5,8 мкм (5,2; 6,2).

При проведении цитофлуориметрического анализа в первую очередь оценивали относительный размер и сложность структуры клеток. Эти параметры определяются при помощи показателей прямого и бокового светорассеяния. FSC характеризует размер клетки — чем больше клетка, тем выше данная величина. В свою очередь,

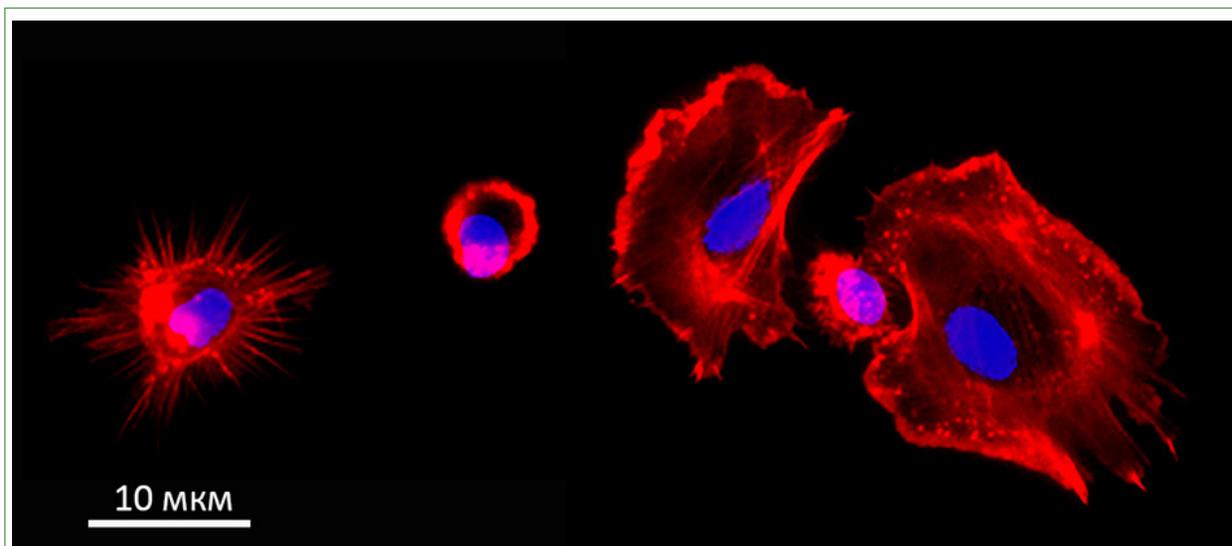


Рис. 2. Гемоциты моллюсков *V. viviparus*, окрашенные флуоресцентными красителями Rhodamine phalloidin (красный) и Hoechst 33342 (синий)

Fig. 2. The hemocytes of *V. viviparus* stained with fluorescence dyes Rhodamine phalloidin (red) and Hoechst 33342 (blue)

чем сложнее устроена клетка, чем крупнее ядро, больше гранул, сложнее мембранные компоненты, тем выше показатель SSC. Комбинированная оценка этих двух параметров позволила отделить клетки от дебриса и разделить общий пул циркулирующих клеток на отдельные популяции.

На первом этапе работы рассчитывали концентрацию клеток гемолимфы. У самцов данная величина оказалась достоверно выше ($p = 0,0073$), чем у самок, и составляла 385 (268; 533) и 283 (214; 381) клеток в микролитре гемолимфы соответственно.

Также проводилась оценка популяционного состава гемоцитов. Визуальный анализ файлов показал значительную степень вариативности популяций между особями, не зависящую от года и места сбора моллюсков. Примеры распределения циркулирующих клеток по параметрам FSC и SSC для разных особей приведены на рисунке 3.

В результате проведенного анализа на основании параметров FSC и SSC общий пул гемоцитов моллюсков *V. viviparus* был разделен на четыре группы клеток, в дальнейшем называемых популяциями (рис. 4).

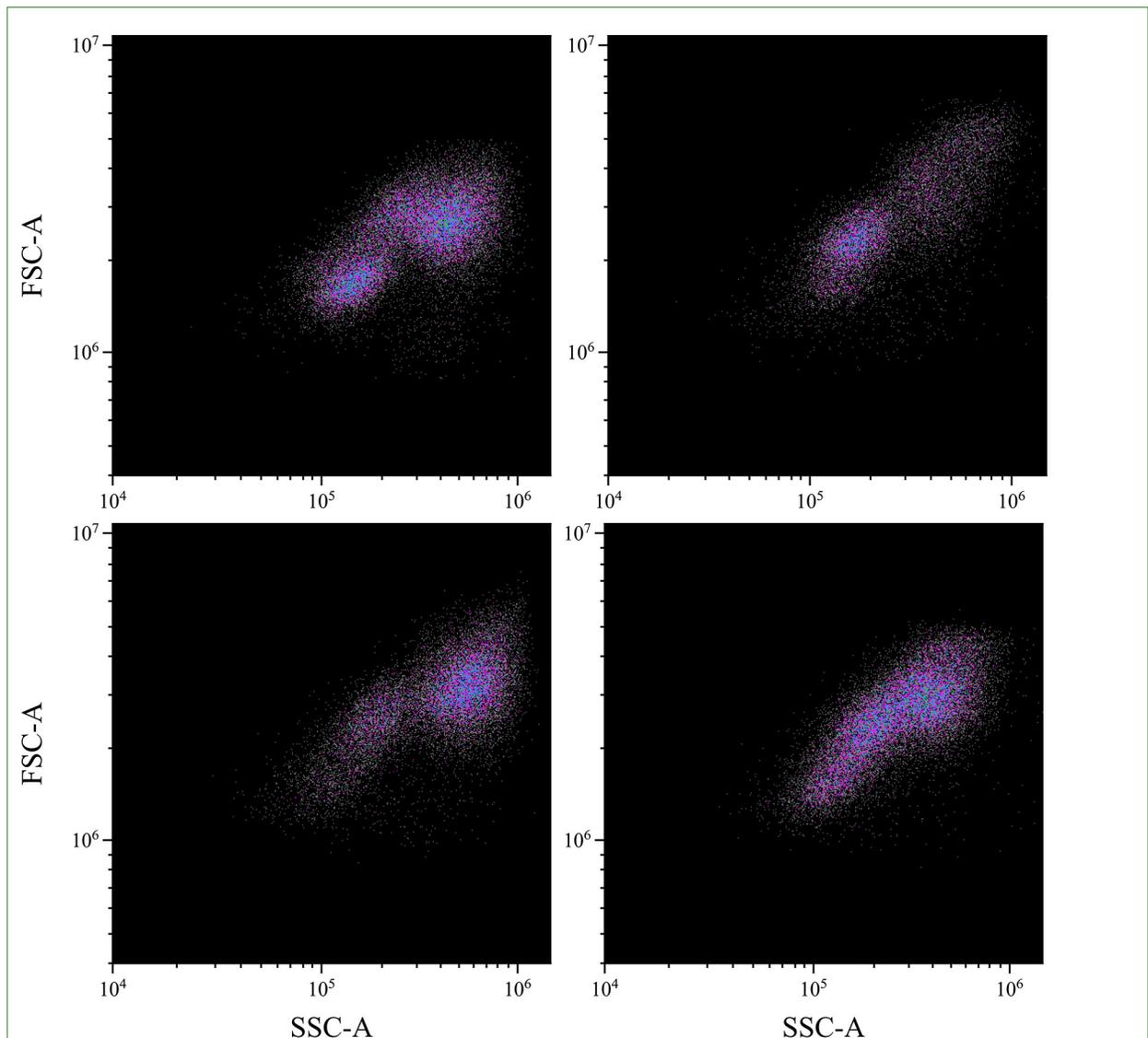


Рис. 3. Примеры распределения на гистограммах гемоцитов разных особей по параметрам прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния, характеризующим размер и структуру клеток. Данные получены в 2015 г. на проточном цитометре Accuri C6

Fig. 3. The examples of FSC vs. SSC histograms from different snails. FSC characterizes the size of the cell, SSC characterizes the structure of the cell. The data was obtained in 2015 using Accuri C6 flow cytometer

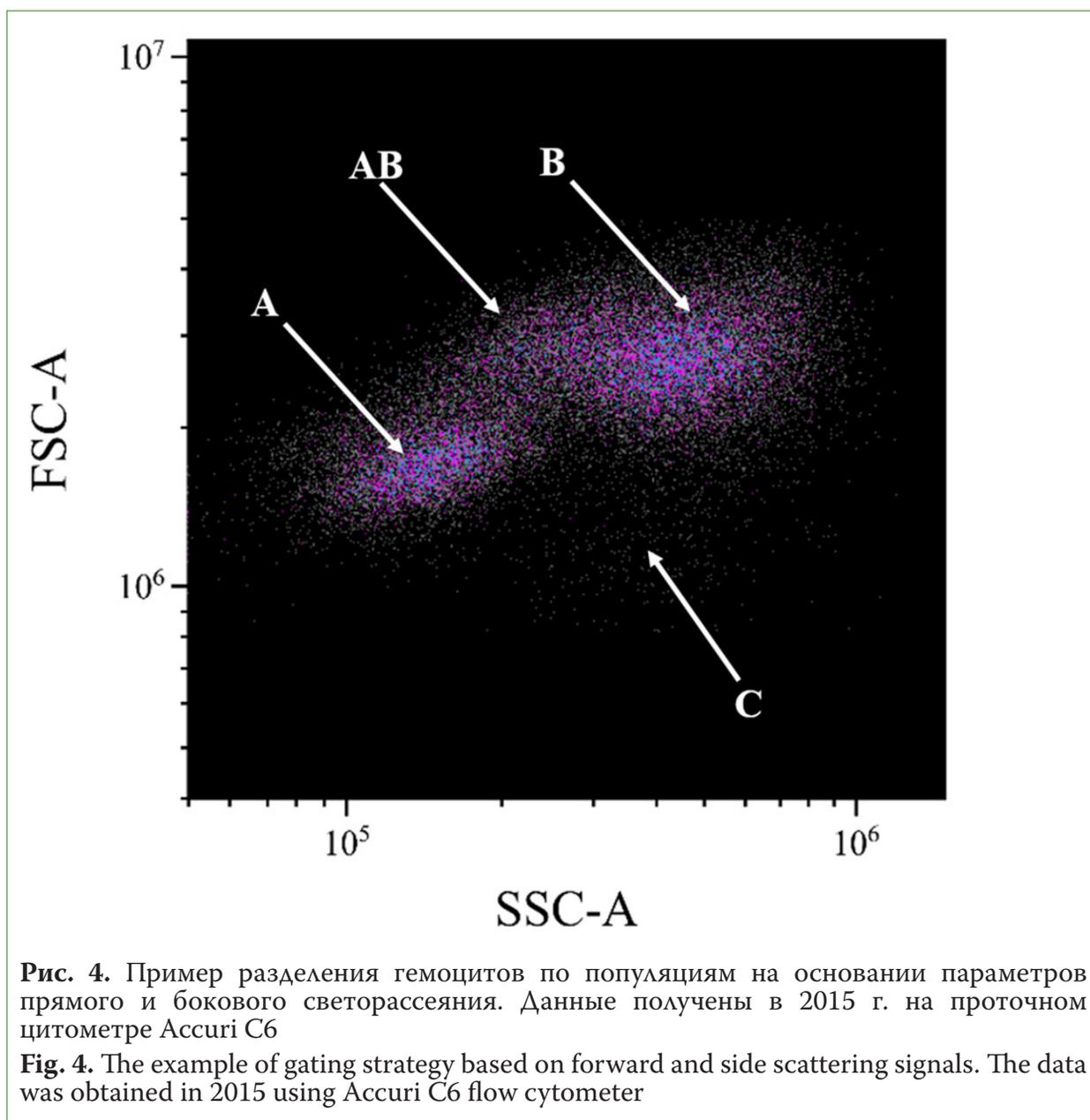


Рис. 4. Пример разделения гемоцитов по популяциям на основании параметров прямого и бокового светорассеяния. Данные получены в 2015 г. на проточном цитометре Accuri C6

Fig. 4. The example of gating strategy based on forward and side scattering signals. The data was obtained in 2015 using Accuri C6 flow cytometer

Клетки популяции «А» обладают низкими параметрами прямого и бокового светорассеяния, что свидетельствует о небольших размерах и сравнительно простой структуре этих клеток, в то время как крупные клетки популяции «В» характеризуются наибольшими значениями обоих параметров. Между этими популяциями находится область перехода, обозначенная нами как популяция «АВ». Составляющие ее клетки имеют промежуточные значения светорассеяния.

Небольшое количество клеток с относительно невысокими значениями прямого светорассеяния и, напротив, высокими

значениями бокового светорассеяния попадают в отдельно выделенную область «С» (рис. 5).

Ранее у представителей этого же рода — моллюсков *V. ater* был описан только один тип гемоцитов (Ottaviani 1989; Ottaviani et al. 1992). При этом морфология клеток, по мнению авторов, полностью совпадает с гранулярными гемоцитами других видов моллюсков.

Анализ параметров светорассеяния и относительного количества гемоцитов разных популяций проводился отдельно для самцов и самок, полученные значения отражены в таблице 1. Стоит отметить, что

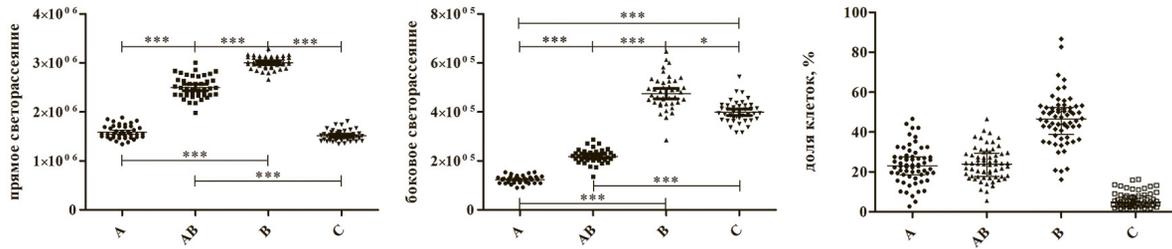


Рис. 5. Различия между популяциями гемоцитов *V. viviparus* по параметрам FSC и SSC и доли популяций (А–С) от общего числа живых гемоцитов. Уровень значимости различий: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig. 5. The differences between hemocytes populations in *V. viviparus* and frequency of populations (A–C) from all alive cells pool. Statistical significance levels: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

достоверных различий по представленным параметрам выявлено не было.

На следующем этапе работы с использованием раствора PI выявляли долю живых и мертвых гемоцитов среди общего пула клеток, а также в рамках каждой популяции. Данный краситель не обладает

способностью проникать через интактную мембрану живых клеток, однако при ее повреждении в ходе апоптоза или некроза легко проникает в клетку и связывается с нуклеиновыми кислотами. Таким образом, по уровню флуоресценции PI хорошо разделяются живые и мертвые клетки.

Таблица 1

Показатели прямого и бокового светорассеяния клеток разных популяций и доли гемоцитов этих популяций от общего числа одиночных клеток в гемолимфе самцов и самок *V. viviparus*

Table 1

Proportion and side scattering in different hemocyte populations and frequency of hemocytes populations in all single cells pool in male and female individuals of *V. viviparus*

		A	AB	B	C
Прямое светорассеяние	Самки	1,55*10 ⁻⁶ (1,49*10 ⁻⁶ ; 1,63*10 ⁻⁶)	2,48*10 ⁻⁶ (2,35*10 ⁻⁶ ; 2,64*10 ⁻⁶)	3,01*10 ⁻⁶ (2,95*10 ⁻⁶ ; 3,10*10 ⁻⁶)	1,48*10 ⁻⁶ (1,42*10 ⁻⁶ ; 1,55*10 ⁻⁶)
	Самцы	1,62*10 ⁻⁶ (1,49*10 ⁻⁶ ; 1,73*10 ⁻⁶)	2,47*10 ⁻⁶ (2,35*10 ⁻⁶ ; 2,79*10 ⁻⁶)	2,98*10 ⁻⁶ (2,90*10 ⁻⁶ ; 3,13*10 ⁻⁶)	1,51*10 ⁻⁶ (1,44*10 ⁻⁶ ; 1,63*10 ⁻⁶)
	p	0,188	0,563	0,580	0,410
Боковое светорассеяние	Самки	1,23*10 ⁻⁵ (1,11*10 ⁻⁵ ; 1,32*10 ⁻⁵)	2,21*10 ⁻⁵ (2,04*10 ⁻⁵ ; 2,31*10 ⁻⁵)	4,82*10 ⁻⁵ (4,44*10 ⁻⁵ ; 5,22*10 ⁻⁵)	4,08*10 ⁻⁵ (3,69*10 ⁻⁵ ; 4,17*10 ⁻⁵)
	Самцы	1,26*10 ⁻⁵ (1,18*10 ⁻⁵ ; 1,37*10 ⁻⁵)	2,19*10 ⁻⁵ (2,05*10 ⁻⁵ ; 2,41*10 ⁻⁵)	4,70*10 ⁻⁵ (4,31*10 ⁻⁵ ; 5,29*10 ⁻⁵)	3,94*10 ⁻⁵ (3,73*10 ⁻⁵ ; 4,34*10 ⁻⁵)
	p	0,223	0,546	0,912	0,667
Доля от общего числа одиночных клеток	Самки	19,92 (16,69;25,53)	20,72 (15,93;24,95)	41,67 (35,18;49,41)	14,27 (10,04;22,38)
	Самцы	20,65 (15,56;23,46)	18,37 (14,82;26,22)	46,16 (37,93; 49,87)	13,03 (6,77;20,04)
	p	0,819	0,480	0,213	0,416

Таблица 2
Доля живых клеток в рамках разных популяций гемоцитов в гемолимфе самцов и самок *V. viviparus*

Table 2
Proportion of alive cells in every hemocytes population in male and female individuals of *V. viviparus*

		A	AB	B	C
Живые клетки	Самки	97,90 (94,65;98,72)	99,17 (97,55;99,55)	90,62 (84,32;94,36)	29,61 (24,46;37,55)
	Самцы	93,65 (77,50;98,40)	97,39 (86,40;99,54)	86,32 (75,05;92,08)	31,67 (22,07;39,01)
	p	0,025	0,029	0,064	0,706

Среди гемоцитов, в целом, доля живых клеток составила 84,40% (75,25; 89,20) у самцов и 80,42% (71,66; 88,94) у самок, однако эти различия не были достоверны ($p = 0,208$). Анализ доли живых гемоцитов в рамках каждой отдельной популяции отражен в таблице 2.

Было показано, что популяции «А», «АВ» и «В» представлены в основном живыми клетками, не окрашенными PI, в то время как популяция «С» на 70% состоит из мертвых клеток. Три популяции живых клеток также были выявлены ранее у моллюсков *Pila globosa* и *Bellamyia bengalensis*

в циркуляции самок, чем самцов. Однако использование в расчетах поправки Бонферрони не позволяет рассматривать эти особенности как значимые.

В связи с выявленными различиями уровня жизнеспособности клеток были рассчитаны доли гемоцитов разных популяций от общего числа живых клеток. Данные представлены в таблице 3.

Заключение

В результате проведенного морфологического и цитометрического анализа циркулирующих гемоцитов лужанок

Таблица 3
Доля гемоцитов разных популяций от общего числа живых (PI-) клеток в гемолимфе самцов и самок *V. viviparus*

Table 3
Proportion of haemocytes populations in all alive cells pool in male and female individuals of *V. viviparus*

		A	AB	B	C
Доля от общего числа живых клеток	Самки	23,25 (18,40;29,90)	24,32 (19,91;29,05)	45,04 (36,21;51,72)	4,95 (3,33;8,20)
	Самцы	23,07 (18,17;27,06)	22,62 (17,34;29,91)	48,89 (42,96;53,22)	4,97 (2,84;8,18)
	p	0,591	0,455	0,229	0,647

(Ray et al. 2013), *Bithynia funiculata*, *B. siamensis siamensis* и *B. siamensis goniomphalos* (Suwannatrai et al. 2019; 2020). Возможно, эти популяции соответствуют типам гемоцитов, описанным ранее у разных легочных моллюсков (Атаев et al. 2016; Pila et al. 2016; Прохорова и др. 2018; Атаев и др. 2023 и др.).

Также стоит отметить тенденцию к большему количеству живых гемоцитов

V. viviparus были выявлены четыре основные популяции клеток. При этом их соотношение значительно варьирует между особями (независимо от их пола). Доля популяций гемоцитов от общего числа живых клеток в циркуляции составляет 23,09% (18,64; 27,60) для популяции «А», 23,98% (18,83; 29,47) для популяции «АВ», 46,52% (38,84; 52,25) для популяции «В» и 4,97% (3,11; 8,12) для популяции «С». Таким

образом, только три популяции представлены функционально активными живыми клетками. Популяция «АВ» выявляется только у части моллюсков и занимает промежуточное положение между популяциями «А» и «В». Эта дифференциация может быть обусловлена различным физиологическим состоянием животных. Вероятно, популяция «АВ» является переходной и содержит клетки, находящиеся на разных этапах специализации.

В случае подтверждения этого предположения можно будет рассматривать все клеточные элементы гемолимфы *V. viviparus* как единую линию дифференцировки из одного типа прогемоцитов. Ранее подобный вариант был показан для легочных моллюсков *Planorbarius corneus* (Serebryakova et al. 2022), у которых выделено два основных типа гемоцитов — ги-

алиноциты и гранулоциты. При этом гиалиноциты находятся на более раннем этапе дифференцировки и способны дифференцироваться в гранулоциты. Такой вывод подтверждают результаты работ, полученных при изучении морских представителей прозобранхий — моллюсков *Littorina littorea* (Gorbushin, Iakovleva 2006). Авторы описывают одну основную популяцию гемоцитов, находящихся на разных стадиях созревания.

Изучение клеток гемолимфы *Viviparus viviparus* также позволяет предположить, что популяцию «А» составляют гиалиноциты, а «В» — гранулоциты.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ в рамках научного проекта № 22-74-00036.

Литература

- Атаев, Г. Л., Прохорова, Е. Е., Токмакова, А. С. (2020) Защитные реакции легочных моллюсков при паразитарной инвазии. *Паразитология*, т. 54, № 5, с. 371–401. <https://doi.org/10.31857/S1234567806050028>
- Атаев, Г. Л., Токмакова, А. С., Прохорова, Е. Е. (2023) *Иммунные реакции моллюсков*. СПб.: Изд-во Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена, 112 с.
- Прохорова, Е. Е., Серебрякова, М. С., Токмакова, А. С. и др. (2018) Анализ клеточного состава гемолимфы трех видов планорбид (Gastropoda: Pulmonata). *Invertebrate Zoology*, т. 15, № 1, с. 103–113. <https://doi.org/10.15298/invertzool.15.1.08>
- 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>
- Gorbushin, A. M., Iakovleva, N. V. (2006) Haemogram of *Littorina littorea*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, vol. 86, no. 5, pp. 1175–1181. <https://doi.org/10.1017/S0025315406014160>
- Ottaviani, E. (1989) Haemocytes of the freshwater snail *Viviparus ater* (Gastropoda, Prosobranchia). *Journal of Molluscan Studies*, vol. 55, no. 3, pp. 379–382. <https://doi.org/10.1093/mollus/55.3.379>
- Ottaviani, E., Franchini, A., Fontanili, P. (1992) The presence of immunoreactive vertebrate bioactive peptide substances in hemocytes of the freshwater snail *Viviparus ater* (Gastropoda, Prosobranchia). *Cellular and Molecular Neurobiology*, vol. 12, no. 5, pp. 455–462. <https://doi.org/10.1007/BF00711546>
- Pila, E. A., Sullivan, J. T., Wu, X. Z. et al. (2016) Haematopoiesis 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>
- Ray, M., Bhunia, N. S., Bhunia, A. S., Ray, S. (2013) A comparative analyses of morphological variations, phagocytosis and generation of cytotoxic agents in flow cytometrically isolated hemocytes of Indian molluscs. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 34, no. 1, pp. 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.11.006>
- 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>
- Suwannatrai, K., Suwannatrai, A. T., Donthaisong, C. et al. (2019) Hemocyte subpopulation changes in Bithynia snails infected with *Opisthorchis viverrini* in Thailand. *bioRxiv*, article 536292. <https://doi.org/10.1101/536292>

Suwannatrai, K., Suwannatrai, A. T., Loukas, A., Sotillo, J. (2020) Recent advances on the immunobiology of *Bithynia spp.* hosts of *Opisthorchis viverrini*. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 102, article 103460. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103460>

References

- 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)
- Ataev, G. L., Prokhorova, E. E., Tokmakova, A. S. (2020) Zashchitnye reaktsii legochnykh mollyuskov pri parazitarnoy invazii [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., Tokmakova, A. S., Prokhorova, E. E. (2023) *Immunnnye reaktsii mollyuskov [Immune reactions of mollusks]*. Saint Petersburg: Herzen State Pedagogical University of Russia Publ., 112 p. (In Russian)
- Gorbushin, A. M., Iakovleva, N. V. (2006) Haemogram of *Littorina littorea*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, vol. 86, no. 5, pp. 1175–1181. <https://doi.org/10.1017/S0025315406014160> (In English)
- Ottaviani, E. (1989) Haemocytes of the freshwater snail *Viviparus ater* (Gastropoda, Prosobranchia). *Journal of Molluscan Studies*, vol. 55, no. 3, pp. 379–382. <https://doi.org/10.1093/mollus/55.3.379> (In English)
- Ottaviani, E., Franchini, A., Fontanili, P. (1992) The presence of immunoreactive vertebrate bioactive peptide substances in hemocytes of the freshwater snail *Viviparus ater* (Gastropoda, Prosobranchia). *Cellular and Molecular Neurobiology*, vol. 12, no. 5, pp. 455–462. <https://doi.org/10.1007/BF00711546> (In English)
- Pila, E. A., Sullivan, J. T., Wu, X. Z. et al. (2016) Haematopoiesis 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) Analiz kletochnogo sostava gemolimfy trekh vidov planorbid (Gastropoda: Pulmonata) [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 Russian)
- Ray, M., Bhunia, N. S., Bhunia, A. S., Ray, S. (2013) A comparative analyses of morphological variations, phagocytosis and generation of cytotoxic agents in flow cytometrically isolated hemocytes of Indian molluscs. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 34, no. 1, pp. 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.11.006> (In English)
- 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)
- Suwannatrai, K., Suwannatrai, A. T., Donthaisong, C. et al. (2019) Hemocyte subpopulation changes in *Bithynia* snails infected with *Opisthorchis viverrini* in Thailand. *bioRxiv*, article 536292. <https://doi.org/10.1101/536292> (In English)
- Suwannatrai, K., Suwannatrai, A. T., Loukas, A., Sotillo, J. (2020) Recent advances on the immunobiology of *Bithynia spp.* hosts of *Opisthorchis viverrini*. *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 102, article 103460. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103460> (In English)

Для цитирования: Серебрякова, М. К., Сахабеев, Р. Г., Токмакова, А. С. (2024) Клеточный состав гемолимфы моллюсков *Viviparus viviparus* (Gastropoda: Prosobranchia). *Амурский зоологический журнал*, т. XVI, № 2, с. 284–293. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2024-16-2-284-293>

Получена 7 марта 2024; прошла рецензирование 8 апреля 2024; принята 11 апреля 2024.

For citation: 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. XVI, no. 2, pp. 284–293. <https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2024-16-2-284-293>

Received: 7 March 2024; reviewed 8 April 2024; accepted 11 April 2024.