

Таким образом, при изменении осмотической нагрузки происходит увеличение линейных размеров всех выделенных типов клеток гемолимфы *Asellus aquaticus*. У гемоцитов типа 3 наблюдается увеличение интенсивности образования филоподий при попадании в гипотоническую среду и разрушение клеток в условиях гипертонии.

Библиографический список

1. Mix M.C., Sparks A.K. Hemocyte classification and differential counts in the Dungeness crab, *Cancer magister*. J. Invertebr. Pathol., 1980, №35, P: 134–143.
2. Stang-Voss Ch. On the ultrastructure of invertebrate hemocytes: an interpretation of their role in comparative hematology. In: Contemporary topics in immunology. E.L. Cooper (ed.). New York; London: Plenum Press., 1974 №4, P: 65–76.
3. Присный А.А. Практикум по физиологии беспозвоночных животных: учебное пособие. – Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2013. – 116 с.

Гребцова Е.А., Присный А.А.
Россия, г. Белгород
shtirlitz009@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ГЕМОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТРЯДА ДИКТЮПТЕРА К ИЗМЕНЕНИЮ ОСМОТИЧНОСТИ СРЕДЫ

Целью работы является изучение устойчивости форменных элементов гемолимфы *Nauphoeta cinerea*, *Gromphadorhina portentosa*, *Blatella germanica* к воздействию повышенной и пониженной осмотической нагрузки.

Материалы и методы. Объектами исследования служили гемоциты трех представителей отряда Dictyoptera: *Nauphoeta cinerea*, *Gromphadorhina portentosa*, *Blatella germanica*. Отбор гемолимфы у насекомых осуществляется из поперечного разреза лапки. Полученную гемолимфу делили на три части, каждую из которых помещали в отдельную чашку Петри. К каждой части гемолимфы добавляли 10 μ m раствора NaCl определенной концентрации (изотонический раствор – 0,9% NaCl, сильногипотонический – 0,2% NaCl) для определения мембранного резерва.

Инкубацию проводили в течение 1 минуты. Далее изучали прижизненные особенности клеток, их морфометрические показатели с помощью оптического инвертированного микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E. Получали фотографии в режиме реального времени и проводили линейные измерения, применяя анализатор изображений «Видео-Тест 5.0».

Гемоциты имеют форму неравностороннего эллипсоида, поэтому измеряли большую, среднюю и малую ось. Используя значения этих линейных размеров вычисляли объем клеток по следующей формуле [2]:

$$V=4/3(\pi abc),$$

где V – объем, a – большая полуось, b – малая полуось, c – средняя полуось.

Результаты исследования.

Гемоциты предварительно классифицированы по морфофункциональным особенностям на 8 типов: прогемоциты (Pro), плазмocyты (Pl), гранулоциты (Gr), сферулоциты (Shp),

веретенovidные плазмoциты (Ver), коагулоциты (Co), энoцитoиды (Oe), серповидные энoцитoиды (CC) [1].

У *N. cinerea* сферuloциты и коагулоциты демонстрировали слабую устойчивость к гипoсмотической нагрузке (таблица 1). Клетки быстро увеличивались в объеме, у отдельных гемоцитoв этот процесс сопровождался разрывом мембраны из-за сильного набухания и выходом внутриклеточных включений.

Таблица 1

**Показатели объема (μm^3) гемоцитoв *N. cinerea*,
инкубированных в растворах различной осмолярности**

Тип клеток	Гипертоническая среда	Изотоническая среда	Гипотоническая среда
Pro	18,4±2,3	21,4±1,2	24,1±1,9
Pl	38,3±1,4	45,9±4,6	61,2±4,3
Gr	22,3±1,5	28,7±1,1	36,0±1,4
Sph	37,1±2,1	40,5±3,9	52,1±3,5
Ver	31,2±1,6	39,6±3,2	45,8±2,8
Co	35,3±1,2	38,1±1,4	47,3±2,1
Oe	37,4±1,2	37,4±2,3	39,8±1,4

У энoцитoидов различия объемных показателей при инкубации в средах разной осмолярности находятся вне пределов значимости. В гипертонической среде веретенovidные плазмoциты демонстрировали значительное уменьшение размеров по короткой оси, в том время как их длина практически не менялась. Понижение и повышение осмолярности растворов не влияло на изменение объема энoцитoидов. Инкубация в гипертонической среде способствовала уменьшению объема гранулоцитoв на 22,3% с сохранением способности формировать псевдоподии (рис. 1).

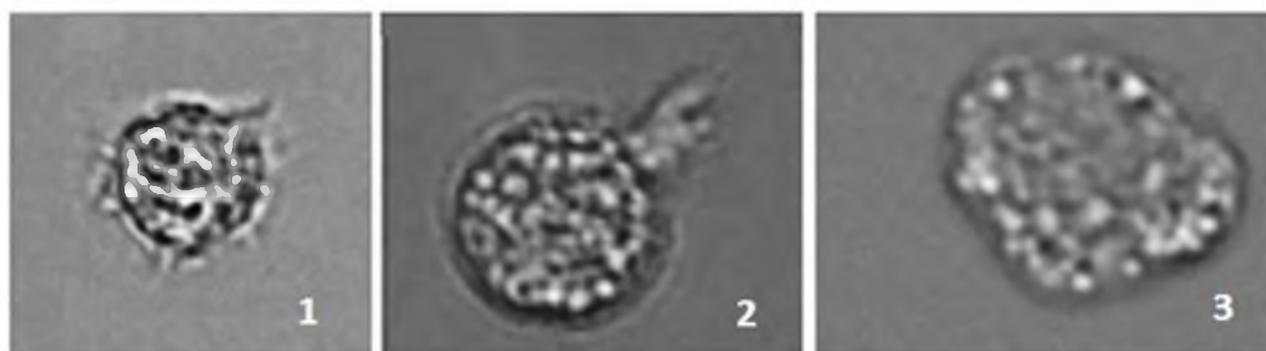


Рис. 1. Морфологические изменения гранулоцита *N. cinerea* при инкубации в средах различной осмолярности: 1. Гипертонический раствор; 2. Физиологический раствор; 3. Сильногипотонический раствор

Гемолимфа *V. gerbanica* отличается меньшим разнообразием форменных элементов. Прогемоциты, веретенovidные плазмoциты и сферuloциты отсутствуют. Преобладающими типами гемоцитoв являются гранулоциты и коагулоциты. Гранулоциты демонстрировали максимальное увеличение объема, 12% этих клеток оказались разрушенными (таблица 2). Повышение осмотического давления привело к уменьшению объема гранулоцитoв на 20%, с последующим восстановлением нормальных размеров при возвращении в физиологическую

среду. Однако в гипертонической среде, в отличие от гранулоцитов *N. cinerea*, клетки теряли способность к образованию псевдоподий (рис. 2).

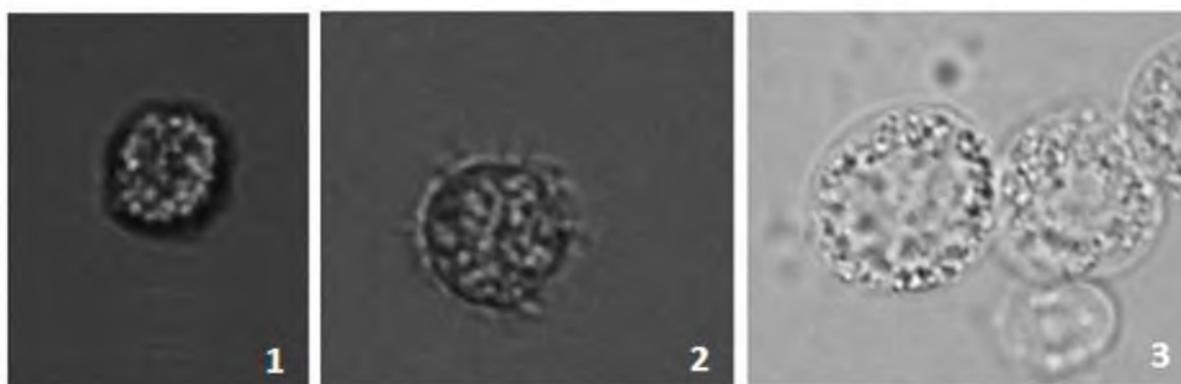


Рис. 2. Морфологические изменения гранулоцита *V. germanica* при инкубации в средах различной осмолярности: 1. Гипертонический раствор; 2. Физиологический раствор; 3. Сильногипотонический раствор

Таблица 2

Показатели объема (μm^3) гемоцитов *V. germanica*, инкубированных в растворах различной осмолярности

Тип клеток	Гипертоническая среда	Изотоническая среда	Гипотоническая среда
Pl	42,1±1,9	48,4±2,2	51,3±2,1
Gr	32,7±2,2	40,9±4,2	68,5±1,8
Co	46,5±1,3	49,6±2,1	57,4±1,7
Oe	30,2±1,9	31,7±2,2	31,8±1,1

Эноцитойды *V. germanica* не реагировали изменением формы и объема в ответ на осмотическую нагрузку. Коагулоциты оказались чувствительны как к понижению, так и к повышению осмотического давления.

Гемоцитарный состав *G. portentosa* представлен всеми типами форменных элементов (таблица 3).

Таблица 3

Показатели объема (μm^3) гемоцитов *G. portentosa*, инкубированных в растворах различной осмолярности

Тип клеток	Гипертоническая среда	Изотоническая среда	Гипотоническая среда
Pro	19,1±2,3	19,4 ±2,5	20,1 ±3,8
Pl	37,1±1,8	50 ±1,7	55,3±2,1
Gr	24,7±1,5	36,7 ±2,2	40,5 ±2,1
Sph	94,6±2,4	103,2±7,2	114,6±4,9
Ver	42±2,1	53,2±4,7	63,9±4,8
Co	34,7±2,3	39,6±1,7	41,1±1,2
Oe	32,2±1,8	34,7±1,6	35,9±2,1
CC	47,7±2,4	48,2±3,8	48,4±1,9

Гемоциты, выполняющие фагоцитарную функцию (плазмоциты, гранулоциты и веретеновидные плазмоциты), значительно увеличивались в объеме, однако сохраняли способ-

ность к формированию псевдоподий, что говорит о неполном использовании мембранного резерва даже в условиях сильной гипотонической нагрузки.

Форменные элементы гемолимфы *G. portentosa* продемонстрировали максимальную устойчивость к изменениям осмолярности среды. Лишь некоторые сферулоциты (рис. 3) претерпевали разрыв наружной плазматической мембраны, в результате чего внутриклеточные включения выходили наружу.

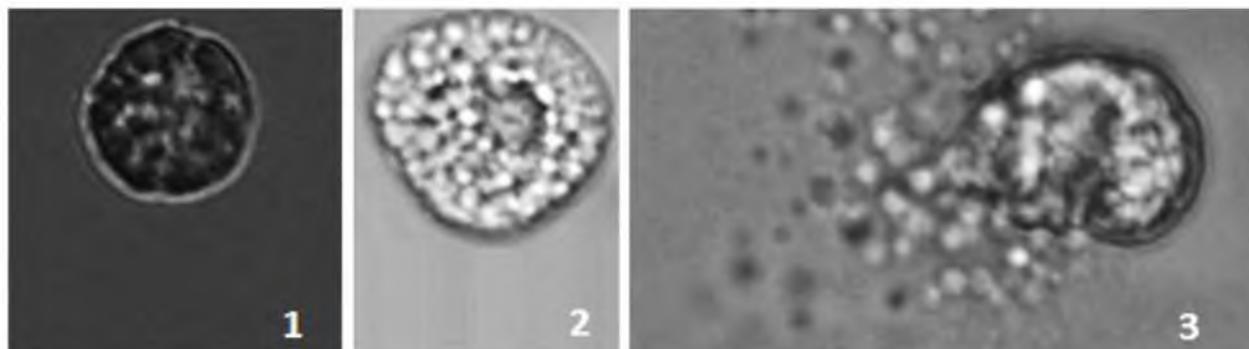


Рис. 3. Морфологические изменения сферулоцита *G. portentosa*: при инкубации в средах различной осмолярности: 1. Гипертонический раствор; 2. Физиологический раствор; 3. Сильногипотонический раствор.

Выводы. Впервые проведена оценка объемных показателей форменных элементов гемолимфы *N. cinerea*, *G. portentosa*, *V. germanica*. В экспериментах на гемоцитах методом осмотического набухания установлено, что деформационные изменения и увеличение объема в средах с низкой осмолярностью происходят с использованием мембранного резерва. Увеличение резерва плазмалеммы фагоцитов создает благоприятные условия для реализации фагоцитарной функции. Небольшое разнообразие форменных элементов гемолимфы *V. germanica* и их низкая устойчивость к осмотической нагрузке может быть связана с синантропностью вида и его невысокой приспособленностью к резко меняющимся условиям среды.

Библиографический список

1. Гребцова Е.А. Исследование подвижности гемоцитов *Gromphadorhina portentosa* // *Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн.* 2014. № 4 (5). URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/1198>
2. Орлов С.Н., Новиков К.Н. Регуляция объема клеток: механизмы, сопряженные клеточные реакции и патофизиологическое значение // *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* – 1996. – Т.82, № 8–9. – С. 1–15.