

DOI: 10.12731/wsd-2017-4-134-150

УДК 612.014.462.1:595.142.3

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И МИКРОРЕЛЬЕФ ЦЕЛОМОЦИТОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА LUMBRICUS В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

*Присный А.А.*

**Цель.** Выявить характер влияния осмотической нагрузки на морфометрические параметры и микрорельеф поверхности мембраны целомоцитов представителей рода *Lumbricus*.

**Материалы и методы.** В экспериментах использованы представители трех видов, принадлежащих роду *Lumbricus*. Для проведения каждой серии эксперимента осуществляли отбор целомиической жидкости у 15 представителей каждого вида. Из системы циркуляции каждой исследованной особи отобрано и обработано не менее 250 клеток. Изучение морфометрических показателей целомоцитов осуществляли в изотонических условиях, а также с использованием осмотических тестов *in vitro*. Особенности рельефа поверхности целомоцитов исследовали с использованием Зондовой Нанолaborатории «Интегра Вита» (NT-MDT, Россия). Проведен анализ амплитудных и функциональных среднестатистических параметров шероховатости поверхности. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета анализа «Microsoft Excel 7.0».

**Результаты.** У представителей р. *Lumbricus* выявлены различия в реакциях амебоцитов и элеоцитов на воздействие осмотической нагрузки. В условиях осмотической нагрузки выявлены несколько морфологически отличающихся форм среди клеток каждого типа. Это свидетельствует о потенциальной способности целомоцитов расплываться на субстрате при любом типе осмотической нагрузки. Изменение топографии клеточной поверхности целомоцитов под действием гипосмотической нагрузки характеризуется сглаживанием структур микрорельефа с уменьшением размеров микровозвышений и микровпадин.

**Заключение.** Изменяясь под воздействием средовых факторов, микрорельеф поверхности целомоцитов отражает особенности их функционального статуса.

*Ключевые слова:* целомоциты; амебоциты; элеоциты; осмотическая нагрузка; микрорельеф мембран.

## MORPHOMETRIC PARAMETERS AND MICRORELIEF OF THE LUMBRICUS CELOMOCYTES IN THE CONDITIONS OF THE OSMOTIC PRESSURE

*Prisnyi A.A.*

**Background:** Study the morphometric parameters and microrelief of the coelomocytes membrane of the Lumbricus representatives in normal and under osmotic pressure.

**Materials and methods:** In the experiments, representatives of three species belonging to the genus Lumbricus were used. To conduct each series of experiments a coelomic liquid of 15 representatives of each species was used. From the circulation system of each individual examined, at least 250 cells were processed. The study of morphometric parameters of coelomocytes was carried out in isotonic conditions, and also with the use of osmotic tests in vitro. The features of the surface topography of coelomocytes were study using the “Integra Vita Probe Nanaboratorium” (NT-MDT, Russia). The analysis of amplitude and functional average statistical parameters of membrane roughness is carried out. The results of the research were processed using statistics methods using the Microsoft Excel 7.0 analysis package.

**Results:** The Lumbricus representatives of revealed differences in the responses of amoebocytes and eleocytes to the effect of osmotic stress. Under the conditions of osmotic pressure, several morphologically different forms were found among the cells of each type. This indicates the potential ability of coelomocytes to spread out on the substrate for any type of osmotic pressure. The change in the topography of the cell membrane of coelomocytes under the hypoosmotic pressure is characterized by a smoothing of the microrelief structures with a decrease in the size of the microvysings and microinvaginations.

**Conclusion:** The microrelief of the coelomocytes membrane reflects the features of their functional status changing under the influence of environmental factors.

**Keywords:** coelomocytes; amoebocytes; eleocytes; osmotic pressure; microrelief of membranes.

### Введение

Внутренней средой организма олигохет является целомическая жидкость. Через нее осуществляется, с одной стороны, накопление запасных питательных веществ, с другой – их расщепление, трансформация и перенос. В связи с этими разнообразными функциями клеточные элементы целомической жидкости подвержены значительным изменениям в процессе роста и развития и наиболее ярко отражают физиологическое состояние организма, поэтому исследование целоцитов представляется необходимым при изучении биологии и физиологии олигохет. В меняющихся условиях среды организм вынужден активировать механизмы поддержания гомеостаза. Это касается как высших, так и беспозвоночных животных. Развитие и апробация нового инструментария на базе атомно-силовой микроскопии при изучении физиологических механизмов адаптации приводят к тому, что беспозвоночные животные становятся все более привлекательными для исследования, так как эти организмы занимают обширные ниши многих экосистем, они многочисленны, но малоизучены [1].

Опубликованные работы зарубежных и отечественных исследователей вносят существенный вклад в изучение клеток и осуществление первичной типологизации, но не содержат достаточных данных о функциональном статусе и морфологических характеристиках гемоцитов и целоцитов беспозвоночных [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

Кольчатые черви оказывают существенное влияние на жизнь человека, они принимают участие в процессах поддержания постоянства среды обитания, входят, как составные части в состав экосистем и трофических сетей. Представителей олигохет используют как объекты для оценки интенсивности антропогенной нагрузки на естественные экосистемы. Они непосредственно подвергаются неблагоприятному влиянию со стороны человека, являясь удобными объектами для исследования. Известны методы мониторинга окружающей среды, основанные на оценке физиологического состояния организма животного по показателям качественного и количественного состава гемолимфы [10, 11, 12, 13, 14].

Изучение морфофизиологических показателей целоцитов в нормальных условиях и при изменении осмотического давления инкубационной среды позволяет осуществить оценку адаптивных возможностей и резистентности разных типов клеток, а также получить новые сведения о механизмах адаптации системы циркуляции аннелид.

### Цель работы

Выявить характер влияния осмотической нагрузки на морфометрические параметры и микрорельеф поверхности мембраны целомоцитов представителей рода *Lumbricus*.

### Материал и методы исследования

В экспериментах использовали представителей трех видов, принадлежащих роду *Lumbricus*: *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758), *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister, 1843), *Lumbricus castaneus* (Savigny, 1826). Сбор и содержание экспериментальных животных осуществляли в соответствии с общепринятыми методами [15]. Для проведения каждой серии эксперимента использовали целомическую жидкость 15 представителей каждого вида. Из системы циркуляции каждой исследованной особи отобрано и обработано не менее 250 клеток. Исследование морфометрических показателей целомоцитов осуществляли в изотонических условиях, а также с использованием осмотических тестов *in vitro*. При проведении нагрузок в качестве гипотонической среды для клеток применяли соответствующие растворы солей [16]. Измерение линейных размеров клеток, а также оценку визуальных параметров осуществляли с использованием инвертированного оптического микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E в режиме дифференциально-интерференционного контраста с системой фиксации изображения. Полученные фотографии подвергали обработке с помощью программного обеспечения ВидеоТест-Размер 5.0 (ООО «Микроскоп Сервис», г. Санкт-Петербург). Особенности рельефа поверхности целомоцитов исследовали с использованием Зондовой Нанолаборатории «Интегра Вита» (NT-MDT, Россия). Анализ амплитудных среднестатистических параметров, служащих для характеристики нерегулярности поверхности в вертикальном направлении осуществлен с помощью программного приложения Image Analysis P9.

Средняя квадратическая шероховатость Sq (Square Roughness, nm) является определяющей характеристикой шероховатости. Параметры Sp (Maximum Peak Height, nm) и Sv (Maximum Valley Depth, nm) определяются как высота самого высокого пика и глубина самой глубокой впадины, отсчитанные от средней плоскости. Поскольку по определению величина Sv равна расстоянию от нижней точки поверхности до уровня средней плоскости, то Sv соответствует средней толщине поверхностного слоя. Асимметрия Ssk (Skewness) – характеризует скошенность распределения профиля, когда один спад крутой, а другой – пологий.

Экссесс  $Sku$  (Kurtosis) характеризует протяженность распределения профиля. Параметр  $Sz$  ( $\equiv St$ ) – максимальная высота рельефа поверхности, определяемая как разность высот между самой высокой и самой низкой точками поверхности на выборочной площади. Так же были определены значения одного из морфологических параметров, характеризующих рельеф в локальной области и степень гладкости поверхности – плотность вершин (пиков)  $Sds$  ( $1/\mu m^2$ ). Данный показатель демонстрирует количество вершин на единицу площади, составляющих поверхность [17].

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета анализа «Microsoft Excel 7.0». Проверку нормальности распределения количественных показателей осуществляли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Различия между данными, распределенными нормально, оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Критический уровень значимости был принят за 0,05. Показатели представлены как среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартная ошибка среднего значения ( $m$ ).

### Результаты исследования и их обсуждение

Клеточные популяции целомоцитов любрицид характеризуются существенной неоднородностью. Для представителей всех исследованных видов характерно наличие двух основных классов целомоцитов – это амeboидные клеточки, или амeboциты, выполняющие иммунную функцию, и элеоциты, участвующие в накоплении и хранении питательных веществ. В экспериментах использованы пять типов клеток: амeboциты (кинетоцит, адгезиоцит, филоподиальный амeboцит) и элеоциты (не фагоцит, хлорогенная клетка) [18, 19, 20]. У всех изученных олигохет три типа амeboцитов по своей численности преобладают над элеоцитами. Из амeboцитов наибольшее количество в целомической жидкости отмечено адгезиоцитов и филоподиальных амeboцитов. Целомоциты, принадлежащие к группе кинетоцитов, по численности почти всегда находятся на третьей позиции. Среди элеоцитов у представителей рода *Lumbricus* преобладают не фагоциты.

В условиях гипосмотической нагрузки достоверно увеличиваются линейные размеры кинетоцитов *L. terrestris* (на 24%), *L. castaneus* (на 57%), *L. rubellus* (на 25%) (табл. 1). В гипотонических условиях кинетоциты *L. terrestris* представлены двумя субпопуляциями – подвижными амeboидами, увеличивающимися в размерах и вакуолизирующимися, и

адгезированными клетками, образующими циркулярную ламеллоплазму, сглаживающими дорсальную поверхность и плотно закрепляющимися на субстрате. Адгезиоциты *L. terrestris* становятся сферическими, в формировании псевдоподий наблюдается полярность. Эти клетки активно перемещаются в жидкости, не закрепляются на подложке.

Кинетоциты *L. castaneus* увеличиваются в размерах, усиливают двигательную активность. Филоподии удлиняются, в их формировании проявляется полярность, обычно в основании скопления филоподий находится ламеллоплазма, которая впоследствии отделяет некоторое количество нитевидных выростов.

Таблица 1.

**Морфометрические показатели целомотитов любрицид в норме  
и в условиях осмотической нагрузки,  $\mu\text{m}$**

Тип целомотита	Показатели	<i>Lumbricus terrestris</i>	<i>Lumbricus rubellus</i>	<i>Lumbricus castaneus</i>
изотоническая среда				
кинетоцит	длинная ось	9,38±0,64	8,18±0,26	8,97±0,62
	короткая ось	7,81±0,49	8,11±0,36	7,71±0,48
адгезиоцит	длинная ось	7,91±0,36	6,91±0,48	7,12±0,23
	короткая ось	7,53±0,27	6,04±0,38	7,01±0,31
филоподиальный амебоцит	длинная ось	5,29±0,14	5,32±0,10	6,23±0,26
	короткая ось	5,28±0,13	5,07±0,21	6,20±0,16
не фагоцит	длинная ось	8,41±0,42	5,62±0,23	6,57±1,24
	короткая ось	7,65±0,27	5,36±0,43	6,20±1,08
хлорогенная клетка	длинная ось	22,59±0,38	10,41±0,31	16,86±1,98
	короткая ось	15,56±0,66	9,91±0,61	13,33±1,71
гипотоническая среда				
кинетоцит	длинная ось	11,69±0,16*	10,27±0,46*	14,09±1,02*
	короткая ось	10,22±0,32*	9,11±0,38*	11,11±0,78*
адгезиоцит	длинная ось	7,37±0,51	7,47±0,42	10,37±0,61*
	короткая ось	7,25±0,28	6,96±0,37	8,26±0,26*
филоподиальный амебоцит	длинная ось	5,81±0,61	6,69±0,37*	6,62±0,28
	короткая ось	5,43±0,78	5,84±0,42	6,47±0,43
не фагоцит	длинная ось	7,72±0,56	5,95±0,32	6,11±0,24
	короткая ось	7,26±0,53	5,48±0,42	5,85±0,49
хлорогенная клетка	длинная ось	14,04±0,88*	17,33±0,91*	14,51±1,86
	короткая ось	11,37±0,79*	16,83±0,41*	12,99±1,53

Окончание табл. 1.

гипертоническая среда				
кинетоцит	длинная ось	10,91±0,22*	9,32±0,65*	11,91±0,89*
	короткая ось	10,35±0,34*	8,21±0,56	10,81±0,59*
адгезиоцит	длинная ось	6,24±0,32*	7,44±0,87	8,11±0,97
	короткая ось	6,02±0,41	6,84±0,46	8,09±0,91
филоподиальный амебоцит	длинная ось	5,35±0,40	6,04±0,27	4,96±0,29*
	короткая ось	5,19±0,25	5,41±0,37	4,92±0,28*
не фагоцит	длинная ось	6,61±0,19*	7,02±0,42*	6,42±0,51
	короткая ось	6,57±0,14*	6,11±0,45	6,22±0,61
хлорогагенная клетка	длинная ось	10,70±0,17*	12,13±0,11*	15,81±1,21
	короткая ось	8,89±0,32*	10,52±0,19	13,01±1,15

**Примечание:** \* – статистически достоверные различия между значениями параметров в изотонических условиях и в условиях осмотической нагрузки по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

Активность адгезиоцитов *L. castaneus* низкая, линейные размеры увеличиваются на 45 %. Уменьшается численность формируемых псевдоподий, часть клеток перестают быть амeboидами.

В условиях гиперосмотической нагрузки не выявлено достоверного уменьшения линейных размеров кинетоцитов, при этом достоверно увеличиваются размеры этих клеток у *L. terrestris* (на 16 %) и *L. castaneus* (на 32 %). В гипертонических условиях целомоциты приобретают шаровидную форму, теряют псевдоподии, двигательная активность этих клеток существенно падает. Кинетоциты *L. terrestris* принимают более компактную сферическую форму, цитоплазма становится зернистой и плотной. Клетки не адгезируют к субстрату и друг к другу, но могут образовывать небольшие группы по 4-5 шт. В гипертонической среде клеточная популяция кинетоцитов *L. castaneus* делится на две группы – целомоциты, прочно адгезирующие к субстрату и клетки, сохраняющие способность к активному перемещению. Все клетки указанного типа снижают скорость формирования, размер и численность псевдоподий.

В условиях гиперосмотической нагрузки линейные размеры филоподиальных амeboцитов *L. castaneus* уменьшаются на 20 %.

Показатели неоднородности микрорельефа целомоцитов *L. terrestris* отличаются разнообразием (табл. 2).

В изотонических условиях на сканограммах кинетоцитов *L. terrestris* можно дифференцировать клеточную полярность – один край обладает

четким контуром, а другой становится полюсом распластывания и образует плавный переход к субстрату. Ядерная область не поднимается над клеточной поверхностью. Микрорельеф мембраны кинетоцитов относительно однообразен. Поверхность плазмалеммы адгезиоцитов образована выпячиваниями в виде одиночных глобул, а так же впадинами неправильной формы. Ядро над поверхностью клетки не возвышается. Адгезиоциты не формируют активный край, периметр целомоцитов характеризуется равномерностью. У филоподиальных амебоцитов в изотонических условиях выявлена равномерная текстура поверхности мембраны, есть ряд некрупных гранул и неглубоких возвышений. Филоподиальные амебоциты имеют очерченный контур, переходящий на одном из полюсов к поверхности субстрата, в связи с этим у клетки легко определяется активный край.

Таблица 2.

**Показатели неоднородности микрорельефа поверхности  
целомоцитов *L. terrestris***

Показатели	КТ	АГ	ФА	НФ	ХЛ
Изотоническая среда					
Sq, nm	0,12±0,02	0,23±0,01	0,15±0,04	0,13±0,01	0,12±0,02
Sa, nm	0,09±0,01	0,17±0,03	0,11±0,02	0,09±0,02	0,11±0,02
Sp, nm	1,93±0,31	1,88±0,41	1,91±0,18	1,84±0,13	1,59±0,25
Sv, nm	1,17±0,22	1,02±0,26	0,92±0,21	1,08±0,05	0,93±0,07
Sds, 1/um·um	5,57±1,19	2,61±0,61	2,32±0,63	1,38±0,12	2,95±0,61
Ssc, nm	1,17±0,23	8,11±2,33	6,88±0,37	4,45±0,97	7,27±1,16
Гипотоническая среда					
Sq, nm	0,17±0,05	0,76±0,02*	0,21±0,03	1,13±0,11*	0,12±0,02
Sa, nm	0,14±0,02	0,14±0,03	1,17±0,05*	0,17±0,02*	0,09±0,01
Sp, nm	1,73±0,21	1,92±0,33	1,68±0,03	1,54±0,31*	1,02±0,03*
Sv, nm	0,82±0,06*	0,96±0,08*	0,48±0,04*	1,31±0,08*	0,29±0,05*
Sds, 1/um·um	2,16±0,14*	2,58±0,46	2,56±0,31	1,98±0,21	2,92±0,31
Ssc, nm	7,38±0,61*	7,72±0,73	8,25±0,34*	5,32±0,63	8,38±0,42
Гипертоническая среда					
Sq, nm	0,185±0,07	0,18±0,03	0,16±0,05	0,12±0,02	0,65±0,03*
Sa, nm	0,148±0,04	0,14 ±0,04	0,123±0,03*	0,99±0,04*	0,51± 0,02*
Sp, nm	1,39±0,28	1,49±0,42	1,56±0,21	0,681±0,11*	0,36± 0,12*
Sv, nm	0,45±0,15*	0,43±0,1*	0,654±0,14	0,80±0,07*	0,78± 0,03*

Окончание табл. 2.

Sds, 1/um·um	1,39±0,9*	1,17±0,83*	1,64±0,34*	3,16±0,53*	0,21±0,01*
Ssc, nm	2,26±0,71	1,84±0,73*	2,44±1,15*	7,25±0,45*	0,326±0,01*

**Примечание:** КТ – кинетоциты; АГ – адгезиоциты; ФА – филоподиальные амебоциты; НФ – не фагоциты; ХЛ – хлорогенные клетки; \* – статистически достоверные различия между значениями параметров в изотонических условиях и в условиях осмотической нагрузки по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

Не фагоциты *L. terrestris* отличаются гомогенной структурой микрорельефа, поверхность мембраны клетки ровная, содержит множество одиночных выпячиваний. Край клетки ровный, без инвагинаций. После инкубации в гипотоническом растворе мембрана формирует две области – околядерная, возвышающаяся над клеточной поверхностью, и периферическая, в которой образованы впадины неправильной формы. Одиночные микровыпячивания встречаются по всей поверхности клетки. Для микрорельефа мембраны хлорогенных клеток характерно наличие большого числа гранул, а так же понижение высоты клетки в околядерной области.

Микрорельеф мембранной поверхности адгезиоцитов *L. castaneus* сглажен, субмембранный фибриллярный остов выражен слабо. Околядерная область возвышается над периферией, по всей поверхности клетки обнаружены выпячивания цитоплазматических гранул диаметром 0,6-0,7  $\mu\text{m}$  (табл. 3).

Таблица 3.

**Показатели неоднородности микрорельефа поверхности  
целоцитов *L. castaneus***

Показатели	КТ	АГ	ФА	НФ	ХЛ
Изотоническая среда					
Sq, nm	0,185±0,07	0,18±0,03	0,16±0,05	0,12±0,02	0,65±0,03
Sa, nm	0,148±0,04	0,14±0,04	0,123±0,03	0,99±0,04	0,51±0,02
Sp, nm	1,39±0,28	1,49±0,42	1,56±0,21	0,681±0,11	0,36±0,12
Sv, nm	0,448±0,15	0,43±0,1	0,654±0,14	0,80±0,07	0,78±0,03
Sds, 1/um·um	1,39±0,9	1,17±0,83	1,64±0,34	3,16±0,53	0,221±0,01
Ssc, nm	2,26±0,71	1,84±0,73	2,44±1,15	7,25±0,45	0,326±0,01
Гипотоническая среда					
Sq, nm	0,12±0,04	0,149±0,06	0,31±0,11	0,23±0,11	0,12±0,02*
Sa, nm	0,11±0,03	0,12±0,02	0,23±0,1	0,19±0,01*	0,07±0,01*
Sp, nm	1,42±0,17	1,35±0,23	1,68±0,63	1,33±0,27*	1,28±0,31*

Окончание табл. 3.

Sv, nm	0,789±0,28	0,67±0,233	0,41±0,11	0,32±0,04*	0,77±0,21
Sds, 1/um·um	1,65±0,46	2,11±1,26	0,63±0,54*	0,39±0,12*	3,62±0,12*
Ssc, nm	3,07±1,05	4,43±3,21*	1,31±0,39	1,61±0,56*	2,53±0,54*
Гипертоническая среда					
Sq, nm	0,08±0,02	0,09±0,01*	0,09±0,02	0,09±0,02	0,11±0,01*
Sa, nm	0,06±0,02*	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01*	0,08±0,01*
Sp, nm	1,45±0,26	1,45±0,14	1,21±0,12	1,21±0,24*	1,18±0,21*
Sv, nm	0,76±0,12	1,02±0,12*	0,59±0,22*	0,63±0,05	0,65±0,05
Sds, 1/um·um	1,24±0,34	1,09±0,34	1,02±0,13	1,13±0,31*	0,61±0,07
Ssc, nm	1,17±0,26	1,54±0,4	1,39±0,26	0,41±0,27*	0,98±0,11*

**Примечание:** КТ – кинетоциты; АГ – адгезиоциты; ФА – филоподиальные амёбоциты; НФ – не фагоциты; ХЛ – хлорогенные клетки; \* – статистические достоверные различия между значениями параметров в изотонических условиях и в условиях осмотической нагрузки по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

По периметру формируются инвадоподии, являющиеся местом контакта целомацита с подложкой. Рельеф поверхности филоподиальных амёбоцитов характеризуется гомогенностью и сглаженностью. Мембрана центральной части клетки гладкая, на периферии выявлена поляризация: на одном полюсе формируются подковообразные складки, а на другом – равномерные широкие подмембранные фибриллярные тяжи. Судя по всему, это связано с двигательной активностью клетки. Складки свидетельствуют о ретракции целомацита, а вытянутые широкие фибриллы обеспечивают формирование активного ламеллярного края клетки. Не фагоциты характеризуются отсутствием специфических структур для обеспечения контакта с субстратом. В большинстве случаев у клетки выявлена равномерная высота, околядерная область не возвышается над периферией. Сквозь мембрану проступают гранулярные структуры.

В гипертоническом растворе для всех типов клеточного пула целомацитов *L. castaneus* характерно увеличение интенсивности складчатости мембраны. Широкие тяжи фибрилл сменяются прерывистыми, плотно расположенными возвышениями длиной менее 1  $\mu\text{m}$ .

Мембрана кинетоцитов *L. rubellus* отличается сглаженным микро-рельефом. Околядерная область приподнята над периферией. Сквозь плазмалемму проступают структуры цитоскелета, имеющие в центральной части клетки вид отдельных возвышений, ближе к периферии формирующие тяжи и складки. Адгезиоциты и филоподиальные

амебоциты обладают сложной структурой поверхности. Профиль целомоцитов этого типа имеет возвышение в околядерной области. На периферии клетки отметили выпячивания гранул и вакуолей, структуры цитоскелета образуют борозды и гребни. Микрорельеф поверхности плазмалеммы гетерогенный, с преобладанием выпячиваний размером до 3,18  $\mu\text{m}$  (табл. 4).

Не фагоциты характеризуются пониженным профилем поверхности клетки в околядерной области. Периферия клетки содержит мембранные выпячивания, обусловленные понижением в области гранул и вакуолей, и выступающими тяжами цитоскелета. У хлорогенных клеток *L. rubellus* выявлено диффузное расположение гетерогенных гранул. При воздействии осмотической нагрузки зафиксировано уменьшение значений показателей неоднородности микрорельефа у всех клеточных типов, за исключением кинетоцитов. На поверхности клеточной мембраны не выявлено борозд и гребней, сформированных фибриллами цитоскелета. Профиль целомоцитов приобретает куполообразный вид. Периферия и околядерная области не дифференцируются.

Таблица 4.

**Показатели неоднородности микрорельефа поверхности  
целомоцитов *L. rubellus***

Показатели	КТ	АГ	ФА	НФ	ХЛ
Изотоническая среда					
Sq, nm	0,09±0,01	113,53±8,91	92,62±10,71	57,56±2,31	134,8±16,3
Sa, nm	0,08±0,02	91,14±7,01	76,21±8,84	43,96±1,45	108,9±7,6
Sp, nm	0,43±0,07	579,41±34,3	546,68±39,78	439,61±3,12	756,8±40,1
Sv, nm	0,22±0,01	308,9±32,7	147,58±6,39	216,84±4,13	242,6±29,6
Sds, 1/um·um	2,51±0,12	3,14±0,65	3,18±0,97	3,61±0,54	3,01±0,05
Ssc, nm	3,09±0,37	1,58±0,42	6,39±1,35	43,24±0,93	14,03±0,94
Sq, nm	0,32±0,06	0,56±0,07	0,51±0,11	0,56±0,12	0,59±0,01
Гипотоническая среда					
Sq, nm	0,16±0,03	0,14±0,02*	0,14±0,04*	0,203±0,07*	0,14±0,01*
Sa, nm	0,13±0,03	0,11±0,01*	0,12±0,03*	0,17±0,06*	0,11±0,02*
Sp, nm	0,96±0,18	0,73±0,11*	0,84±0,07*	1,13±0,07*	0,89±0,13*
Sv, nm	0,71±0,03*	0,89±0,06*	0,81±0,06*	0,78±0,07*	1,03±0,12*
Sds, 1/um·um	0,66±0,08*	3,27±0,24	3,02±0,61	2,87±0,45	4,02±0,34
Ssc, nm	2,72±0,03	12,55±1,37*	8,96±1,14	9,14±0,99*	8,89±0,27*
Sq, nm	0,11±0,01*	0,76±0,02	0,69±0,08	0,68±0,08	0,64±0,05

Окончание табл. 4.

Гипертоническая среда					
Sq, nm	0,18±0,02	0,08±0,005*	0,19±0,02*	0,11±0,02*	0,16±0,01*
Sa, nm	0,16±0,01	0,062±0,002*	0,15±0,01*	0,09±0,02*	0,13±0,01*
Sp, nm	0,95±0,05	0,46±0,12*	1,58±0,07*	0,66±0,03*	0,93±0,06*
Sv, nm	0,12±0,01	0,77±0,03*	0,131±0,02*	0,08±0,02*	0,92±0,07*
Sds, 1/um·um	2,47±1,05	2,85±0,31	4,21±1,06	2,46±0,56	2,81±0,31
Ssc, nm	129,8±6,43*	12,38±1,74*	3,88±0,34*	136,82±5,48*	25,42±2,31*
Sq, nm	0,59±0,05	0,77±0,12	0,34±0,06	0,56±0,04	0,53±0,08

**Примечание:** КТ – кинетоциты; АГ – адгезиоциты; ФА – филоподиальные амебоциты; НФ – не фагоциты; ХЛ – хлорогенные клетки; \* – статистически достоверные различия между значениями параметров в изотонических условиях и в условиях осмотической нагрузки по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

При гипоосмотической нагрузке значения показателей шероховатости не претерпевают изменений у кинетоцитов, но существенно уменьшаются у остальных клеточных типов. Мембрана клеток формирует крупные выпячивания. Значения показателей средней кривизны пиков увеличились у не фагоцитов. У амебоидных клеток отмечено изменение указанного параметра в противоположном направлении. В гипертоническом растворе установлено сглаживание рельефа мембраны у целоцитов всех типов, кроме кинетоцитов, не претерпевающих значительных изменений.

### Заключение

Результаты проведенных исследований показали, что у представителей рода *Lumbricus* выявлены различия в реакциях амебоцитов и элеоцитов на воздействие осмотической нагрузки. Среди амебоидных элементов представителей люмбрицид обнаружены клетки, которые демонстрируют лучший уровень приспособленности, как в гипотонических, так и в гипертонических условиях, и одинаково реагирующие на любой тип изменения солености. Отсутствие взаимосвязи между уменьшением и увеличением морфометрических показателей и активностью целоцитов следует объяснять запрограммированным для каждого типа клеток поведением в условиях осмотической нагрузки. Способность к формированию филоподий, адгезии к субстрату или активному перемещению активируется вне зависимости от возможной динамики линейных размеров.

У представителей изученных видов аннелид, в условиях осмотической нагрузки, выявлены несколько морфологически отличающихся форм среди клеток каждого типа. Это свидетельствует о потенциальной способности целомочитов распластываться на субстрате при любом типе осмотической нагрузки. В условиях изменения осмотического давления среды микрорельеф поверхности фагоцитирующих целомочитов характеризуется более существенной динамикой по сравнению с элеоцитами.

### Список литературы

1. Рупперт Э.Э., Фокс Р.С., Варне Р.Д. Зоология беспозвоночных: Функциональные и эволюционные аспекты: в 4 т. Т. 3. Членистоногие. М.: Издательский центр «Академия», 2008. 496 с.
2. Персинина М.С. Обновление и дифференцировка клеток целомической жидкости у полихеты *Arenicola marina*. III. Авторадиографический анализ // Цитология. 1995. Т. 37. С. 101–112.
3. Присный А.А. Влияние динамики осмотического давления на механические свойства плазматической мембраны гемоцитов некоторых представителей аннелид // Вестник Тамбовского университета. Серия Естественные и технические науки. 2013. Т. 18. Вып. 4. С. 1629–1630.
4. Присный А.А. Морфометрические параметры и микрорельеф гемоцитов представителей *Hirudo medicinalis* (Linnaeus, 1758) в условиях осмотической нагрузки // Международный научно-исследовательский журнал. 2015. № 7–2(38). С. 78–80.
5. Присный А.А. Морфометрические параметры и микрорельеф гемоцитов представителей Hirudinomorpha в условиях осмотической нагрузки // Естественные и технические науки. 2015. № 8(86). С. 11–16.
6. Prsny A.A. Microrelief of Hirudinomorpha Hemocytes under Osmotic Stress // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015. Vol. 6 (5), pp. 1558–1562.
7. Dales R.P. The reproduction and larval development of *Nereis diversicolor* // J. Marine Biol. Assoc. U.K. 1950. Vol. 29, pp. 321–360.
8. Dales R.P. The coelomocytes of the terebellid polychaete *Amphitrite jonstioni* // Quart. J. Microscop. Sci. 1964. Vol. 105, pp. 263–274.
9. Ratcliffe N.A., Rowley A.F., Fitzgerald S.W., Hodes P.R. Invertebrate immunity: Basic concepts and recent advances // Int. Rev. Cytol. 1985. Vol. 97, pp. 183–350.
10. Артемьева Т.И. Комплексы почвенных животных и вопросы рекультивации техногенных территорий. М.: Наука, 1989. 111 с.
11. Dorn P.B. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation // Chemosphere. 2000. Vol. 40, pp. 419–426.

12. Gupta S.K., Singh S.B., Sundararaman V. Cadmium toxicity in earthworm, *Metaphire posthuma*: Ultrastructural changes in secretory cells of clitellar epithelium // Indian J. Exp. Biol. 1997. Vol. 7, pp. 780–786.
13. Holmstrup M., Bayley M., Sjørnsen H., Hrjer R., Bossen S., Friis K. Interactions between environmental pollution and cold tolerance of soil invertebrates: a neglected field of research // CryoLetters. 2000. Vol. 21, pp. 309–314.
14. Saterbak A., Toy R., Wong D.C.L., McMain B.J., Williams M.P., Dorn P.B., Brzuzu L.P., Chai E.Y., Salanito J.P. Ecotoxicological and analytical assessment of hydrocarbon-contaminated soils // Environ. Toxicol. Chem. 1999. Vol. 18(7), pp. 1591–1607.
15. Присный А.А. Практикум по физиологии беспозвоночных животных. Белгород: Издательство БелГУ, 2013. 116 с.
16. Brousseau P., Fugère N., Bernier J. Evaluation of earthworm exposure to contaminated soil by cytometric assay of coelomocytes phagocytosis in *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta) // Soil Biology and Biochemistry. 1997. Vol. 29(3–4), pp. 681–684.
17. Новак А.В. Шероховатость пленок аморфного, поликристаллического кремния и поликристаллического кремния с полусферическими зернами // Письма в ЖТФ. 2013. Т. 39, № 19. С. 32–40.
18. Присный А.А. Типология и функциональные особенности клеточных элементов внутренней среды обыкновенного земляного червя (*Lumbricus terrestris* L.) // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки. 2012. № 3 (122). Выпуск 18. С. 151–154.
19. Присный А.А. Изменение структуры целоцитов *Eisenia rosea* и *Eisenia foetida* под действием осмотической нагрузки // В мире научных открытий. 2014. № 2 (50). С. 275–280.
20. Присный А.А. Изменение морфометрических показателей гемоцитов *Hirudo medicinalis* и *Hemopsis sanguisuga* в ответ на осмотическую нагрузку // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки. 2014. № 17 (188). Выпуск 28. С. 125–128.

### References

1. Ruppert E.E., Foks R.S., Varne R.D. *Zoologiya bespozvonochnykh: Funk-tsional'nye i evolyutsionnye aspekty. Chlenistonogie* [Zoology of invertebrates: Functional and evolutionary aspects. Arthropods]. Moscow: Publishing Center «Akademiya», 2008. 496 p.
2. Persinina M.S., Chaga O.Yu. Obnovlenie i differentsirovka kletok tselomicheskoy zhidkosti u polikhety *Arenicola marina*. III. Avtoradiograficheskiy analiz

- [Renewal and differentiation of coelomic fluid cells in polychaetes of *Arenicola marina*. III. Autoradiographic analysis]. *Tsitologiya* [Cytology], 1995, vol. 37, pp. 101–112.
3. Prisnyi A.A., Pigaleva T.A. Vliyanie dinamiki osmoticheskogo davleniya na mekhanicheskie svoystva plazmaticheskoy membrany gemotsitov nekotorykh predstaviteley annelid [Effect of osmotic pressure dynamics on the mechanical properties of the plasma membrane of hemocytes of some representatives of annelids]. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya Estestvennye i tekhnicheskije nauki* [Bulletin of Tambov University. Series of Natural and Technical Sciences], 2013, vol. 18, issue 4, pp. 1629–1630.
  4. Prisnyi A.A. Morfometricheskie parametry i mikrorel'ef gemotsitov predstaviteley *Hirudo medicinalis* (Linnaeus, 1758) v usloviyakh osmoticheskoy nagruzki [Morphometric parameters and microrelief of hemocytes from representatives of *Hirudo medicinalis* (Linnaeus, 1758) under conditions of osmotic load]. *Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* [International Scientific and Research Journal], 2015, no. 7–2(38), pp. 78–80.
  5. Prisnyi A.A. Morfometricheskie parametry i mikrorel'ef gemotsitov predstaviteley Hirudinomorpha v usloviyakh osmoticheskoy nagruzki [Morphometric parameters and microrelief of hemocytes of representatives of Hirudinomorpha under conditions of osmotic load]. *Estestvennye i tekhnicheskije nauki* [Natural and technical sciences], 2015, no. 8(86), pp. 11–16.
  6. Prsny A.A. Microrelief of Hirudinomorpha Hemocytes under Osmotic Stress. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015, vol. 6(5), pp. 1558–1562.
  7. Dales R.P. The reproduction and larval development of *Nereis diversicolor*. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, 1950, vol. 29, pp. 321–360.
  8. Dales R.P. The coelomocytes of the terebellid polychaete *Amphitrite jonstioni*. *Quart. J. Microscop. Sci.*, 1964, vol. 105, pp. 263–274.
  9. Ratcliffe N.A., Rowley A.F., Fitzgerald S.W., Hodes P.R. Invertebrate immunity: Basic concepts and recent advances. *Int. Rev. Cytol.*, 1985, vol. 97, pp. 183–350.
  10. Artem'eva T.I. *Kompleksy pochvennykh zhivotnykh i voprosy rekul'tivatsii tekhnogennykh territoriy* [Complexes of soil animals and issues of reclamation of man-made territories]. Moscow: "Nauka" publ., 1989. 111 p.
  11. Dorn P.B., Salanitro J.P. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. *Chemosphere*, 2000, vol. 40, pp. 419–426.
  12. Gupta S.K., Singh S.B., Sundararaman V. Cadmium toxicity in earthworm, *Metaphire posthuma*: Ultrastructural changes in secretory cells of clitellar epithelium. *Indian J. Exp. Biol.*, 1997, vol. 7, pp. 780–786.

13. Holmstrup M., Bayley M., Sjørnsen H., Hrjer R., Bossen S., Friis K. Interactions between environmental pollution and cold tolerance of soil invertebrates: a neglected field of research. *CryoLetters*, 2000, vol. 21, pp. 309–314.
14. Saterbak A., Toy R., Wong D.C.L., McMain B.J., Williams M.P., Dorn P.B., Brzuzu L.P., Chai E.Y., Salanito J.P. Ecotoxicological and analytical assessment of hydrocarbon-contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1999, vol. 18(7), pp. 1591–1607.
15. Prisnyi A.A. *Praktikum po fiziologii bespozvonochnykh zhivotnykh*. [Practice on the physiology of invertebrate animals]. Belgorod: BelSU Publishing House, 2013. 116 p.
16. Brousseau P., Fugère N., Bernier J. Evaluation of earthworm exposure to contaminated soil by cytometric assay of coelomocytes phagocytosis in *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, vol. 29(3–4), pp. 681–684.
17. Novak A.V., Novak V.R. Sherohovatost' plenok amorfnogo, polikristallicheskogo kremniya i polikristallicheskogo kremniya s polusfericheskimi zernami [The roughness of films of amorphous, polycrystalline silicon and polycrystalline silicon with hemispherical grains]. *Pis'ma v ZhTF* [Letters to Journal of technical physic]. 2013, T. 39, no. 19, pp. 32–40.
18. Prisnyi A.A., Pigaleva T.A. Tipologiya i funktsional'nye osobennosti kletochnykh elementov vnutrenney sredy obyknovennogo zemlyanogo chervya (*Lumbricus terrestris* L.) [Typology and functional features of cellular elements of the internal environment of an ordinary earthworm (*Lumbricus terrestris* L.)]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Scientific bulletins of the Belgorod State University. Series of Natural Sciences]. 2012, no. 3 (122), issue 18, pp. 151–154.
19. Prisnyi A.A. Izmenenie struktury tselomotsitov *Eisenia rosea* i *Eisenia foetida* pod deystviem osmoticheskoy nagruzki [Change in the structure of coelomocytes *Eisenia rosea* and *Eisenia foetida* under the influence of osmotic load]. *V mire nauchnykh otkrytiy* [Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture]. 2014, no. 2 (50), pp. 275–280.
20. Prisnyi A.A. Pigaleva T.A. Izmenenie morfometricheskikh pokazateley gemotsitov *Hirudo medicinalis* i *Hemopis sanguisuga* v otvet na osmoticheskuyu nagruzku [Change in morphometric parameters of hemocytes *Hirudo medicinalis* and *Hemopis sanguisuga* in response to osmotic load]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Scientific bulletins of the Belgorod State University. Series of Natural Sciences]. 2014, no. 17 (188), issue 28, pp. 125–128.

### **ДАнные ОБ АВТОРЕ**

**Присный Андрей Андреевич**, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко», Белгородский филиал  
ул. Курская, 4, г. Белгород, 308002, Российская Федерация  
andreyprisny@gmail.com*

### **DATA ABOUT THE AUTHOR**

**Prisnyi Andrey Andreevich**, Doctor of Biology, Associate Professor, Leading Researcher

*Belgorod Department of Ya.R. Kovalenko All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine  
4, Kurskaya str., Belgorod, 308002, Russian Federation  
andreyprisny@gmail.com*

*SPIN-code: 2523-4576*

*ORCID: 0000-0001-5229-8337*

*ResearcherID: M-9243-2017*

*Scopus Author ID: 56358999400*