

УДК 581.17:595.754

DOI: 10.18413/2409-0298-2016-2-3-15-20

Присный А. А.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОЦИТОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТРЯДА НЕТЕРОПТЕРА

старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, Белгородский филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко», ул. Курская, 4, Белгород, 308002, Российская Федерация, E-mail: andreyprisny@gmail.com

### Аннотация

Осуществлена типология гемоцитов представителей отряда Heteroptera. Выявлено четыре типа клеток гемолимфы: амебоциты, гранулоциты, сферулоциты и веретенновидные клетки. Гемолимфа представителей отряда Heteroptera характеризуется неоднородностью гемоцитарного состава, все идентифицированные четыре типа гемоцитов обнаружены только у *R. linearis* и *N. glauca*. Наиболее характерными клеточными элементами внутренней среды представителей отряда Heteroptera являются амебоциты, обеспечивающие реакции клеточного иммунитета, и гранулоциты, участвующие в реализации гуморальных иммунных реакций. Фагоцитарные реакции в гемолимфе осуществляются амебоцитами. Воздействие осмотической нагрузки не оказывает активирующего или ингибирующего влияния на фагоцитарную активность гемоцитов, сохраняющих способность к выполнению защитных функций. Использование мембранного резерва в регуляции клеточного объема у амебоцитов выше, чем у других клеточных элементов. Интенсивность внутриклеточных энергетических процессов у амебоцитов значительно превосходит аналогичные показатели других типов клеток внутренней среды. Упруго-эластические свойства и показатели силы адгезии мембраны гемоцитов в условиях осмотической нагрузки характеризуются неоднозначной динамикой значений. Клеточная поверхность гемоцитов не проявляет достоверных реакций на осмотическую нагрузку.

**Ключевые слова:** гемоциты; фагоцитоз; мембранный резерв; упругость; сила адгезии

Prisny A.A.

## MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF THE HETEROPTERA HEMOCYTES

PhD in Biology, Senior scientific researcher, All-Russian research institute for experimental veterinary medicine named Ya.R. Kovalenko, Kurskaya St., 4, Belgorod, 308002, Russian Federation, E-mail: andreyprisny@gmail.com

### Abstract

Typology of hemocytes of the Heteroptera representatives was implemented. Four types of hemolymph cells were revealed: amebocyte, granulocytes, spherule and fusiform cells. The Heteroptera representatives hemolymph is characterized by heterogeneity of hemocytes composition, all identified four types of hemocytes were found only in *R. linearis* and *N. glauca*. The most characteristic cellular elements of the internal environment of the members of the Heteroptera are amebocytes, providing reactions of cellular immunity, and granulocytes that are involved in the humoral immune responses. Phagocytic reactions in the hemolymph are carried out by amebocytes. The osmotic load has no activating or inhibiting effect on the phagocytic activity of the hemocytes, preserving the ability to perform protective functions. The use of the membrane reserve in the regulation of cellular volume in amebocytes is higher than in other cellular elements. The intensity of intracellular energy processes in amebocytes significantly exceeds similar indicators of other types of cells of the internal environment. Elastic properties and the strength of adhesion of the hemocytes membrane in terms of the osmotic pressure are characterized by mixed values. Cell surface of the hemocytes does not show reliable responses to osmotic stress.

**Keywords:** hemocytes; phagocytosis; membrane reserve; elasticity; adhesion strength

Внутреннюю среду организма беспозвоночных животных составляет гемолимфа. Через гемолимфу осуществляется как накопление запасных питательных веществ, так и их расщепление, трансформация и перенос. Гемолимфа и ее

клеточные элементы принимают активное участие в дыхании и общем обмене. В связи с этими разнообразными функциями клеточные элементы гемолимфы (гемоциты) подвержены существенным изменениям в процессе роста и развития и наиболее

ярко отражают физиологическое состояние организма, поэтому исследование клеточных элементов гемолимфы представляется необходимым при изучении биологии и физиологии беспозвоночных и имеет определенное значение для систематики [7, 10, 11].

Количество и типология гемоцитов у членистоногих отличаются в зависимости от видовой принадлежности, стадии развития и физиологического состояния. Общее количество гемоцитов увеличивается в течение личиночного развития, достигая максимума после каждой личиночной линьки [1]. Результаты исследований, опубликованные в доступных источниках, демонстрируют разное число клеточных типов в гемолимфе членистоногих – от двух до десятка, при этом в литературе содержится множество различных названий гемоцитов, описывающих несколько морфотипов [2, 5, 6, 8, 9, 12, 13, 14].

**Цель работы:** изучение морфо-функциональных свойств гемоцитов представителей отряда Heteroptera.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе кафедры экологии, физиологии и биологической эволюции НИУ «БелГУ».

В экспериментах использовали представителей отряда Heteroptera: *Ranatra linearis* (Fabricius, 1790), *Notonecta glauca* (Linnaeus, 1758), *Gerris lacustris* (Linnaeus, 1758), *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus, 1758), *Graphosoma lineatum* (Linnaeus, 1758). Сбор и содержание экспериментальных животных осуществляли в соответствии с общепринятыми методами.

Для проведения эксперимента использовали гемолимфу 15 представителей каждого вида. Из системы циркуляции каждой исследованной особи отобрано и обработано не менее 100 клеток.

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). Линейные размеры гемоцитов, высоту и объем определяли с использованием Зондовой Нанолaborатории «Интегра Вита» (NT-MDT, Россия).

Показатели фагоцитоза исследовали путем инкубации форменных элементов гемолимфы с супернатантом дрожжевых клеток (*Saccharomyces cerevisiae*) во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 мин. Осуществляли видеосъемку с использованием инвертированного

оптического микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E и программы Nis-Elements (Nikon).

При исследовании осморегуляторных реакций гемоцитов при проведении осмотических тестов *in vitro* изучены следующие параметры: линейные размеры клеток, высота, площадь поверхности и объем клеток, способность клеток к образованию псевдоподий, форма и линейные размеры ядра, положение ядра в клетке, наличие/отсутствие и размеры гранул. По результатам экспериментов рассчитаны показатели абсолютного и относительного мембранного резерва, а также интенсивность использования относительного мембранного резерва клетками в гипотонической среде.

Особенности рельефа поверхности гемоцитов, а также показатели упругости клеточной мембраны и силу адгезии мембраны к нанозонду при проведении осмотической нагрузки *in vitro* определяли с использованием Зондовой Нанолaborатории «Интегра Вита» (NT-MDT, Россия). По результатам осуществлен анализ амплитудных и функциональных среднестатистических параметров шероховатости поверхности.

Изучение энергетического статуса гемоцитов в норме и при осуществлении осмотической нагрузки *in vitro* проводили с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E и программного обеспечения C1 (Nikon). Для оптической индикации различий клеточного митохондриального мембранного энергетического резерва был использован потенциалзависимый флуоресцентный зонд родамин Б.

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета анализа «Microsoft Excel 7.0» на персональном компьютере. Статистический анализ результатов экспериментов проведен с применением критерия Стьюдента для 5%-го уровня значимости.

### Результаты исследования и их обсуждение

Клеточные элементы гемолимфы насекомых – это мезодермальные ядерные клетки, которые циркулируют в гемолимфе или свободно располагаются на тканевых поверхностях в гемоцеле. Самыми обычными для всех видов насекомых можно считать 3-4 типа гемоцитов, однако, кроме того, можно обнаружить еще 4-5 более редких типов. В гемолимфе содержатся различные продукты клеточной гибели – фрагменты цитоплазмы разрушающихся гемоцитов и иных клеток. Количество гемоцитов находится в зависимости от возраста и физиологического состояния животного.

Гемоциты принимают участие в обмене между тканями, обеспечивая, таким образом, выполнение трофической функции. Эти клетки, кроме того, играют роль формообразования, выделяя биохимические агенты, которые способствуют гистогенезу, или дифференцируясь в другие типы клеток.

Исследование гемоцитов представителей отряда Heteroptera позволило идентифицировать четыре типа клеток.

Амебоцит – круглая или овальная клетка, цитоплазма которой заполнена мелкими гранулами. Ядро крупное, может занимать как центральное, так и периферическое положение. Амебоциты способны образовывать множество псевдоподий, активно передвигаются, распластываются на субстрате медленно.

Гранулоцит – округлая клетка, не образующая филоподий. Содержит большое количество гранул. Гранулоциты могут достигать 20 мкм в диаметре и обладают хорошо выраженной цитоплазмой. Данный клеточный тип рассматривается как аналог тучных клеток позвоночных. Гранулоциты активны в таких реакциях неспецифической защиты, как образование узелков, заживление ран, коагуляция гемолимфы.

Сферулоцит – крупная полиморфная клетка. Цитоплазма заполнена множеством везикул. Ядро небольшое, овальной или бобовидной формы, располагается эксцентрично. Клетка не способна к образованию псевдоподий. Данный тип клеток представляет, очевидно, конечную стадию дифференцировки гранулярных клеток.

Веретенновидная клетка – вытянутая веретенообразная клетка со светлыми

включениями. Ядро небольшое, занимает центральную часть.

Все четыре типа гемоцитов: амебоциты, гранулоциты, сферулоциты и веретенновидные клетки обнаружены у представителей видов *R. linearis* и *N. glauca*. Лидирующим по численности типом клеток являются сферулоциты (47-55 %). Количество амебоцитов колеблется в пределах 8-14 % от общей численности гемоцитов. Следует отметить относительно постоянное количество веретенновидных клеток – 18-19 %. В гемолимфе *G. lacustris* выявлено три типа клеток – амебоциты, гранулоциты и веретенновидные клетки. В ходе исследования гемолимфы *P. apterus* и *G. lineatum* выявлено наличие только двух типов гемоцитов – амебоциты и веретенновидные клетки, при этом численность веретенновидных клеток выше, чем амебоцитов.

При инкубации в гипоосмотическом растворе амебоциты изученных представителей отряда Heteroptera практически не меняют форму и линейные размеры, однако псевдоподии образуются в меньшем числе, и частично снижается двигательная активность клетки. При инкубации в гипертоническом растворе осажженные на субстрат амебоциты уменьшаются в размерах и передвигаются по стеклу, не распластываясь.

Амебоциты представителей отряда Heteroptera являются клетками, способными к фагоцитарным реакциям. В ходе исследований были определены фагоцитарный индекс, фагоцитарное число и индекс адгезии амебоцитов в норме и при осмотической нагрузке (таблица 1).

Таблица 1

Показатели фагоцитарной активности амебоцитов в норме и в условиях осмотической нагрузки

Table 1

The phagocytic activity of amoebocytes in normal and in conditions of osmotic pressure

Вид	Фагоцитарный индекс, усл. ед.	Фагоцитарное число, усл. ед.	Индекс адгезии, %
Изотоническая среда			
<i>R. linearis</i>	0,42	3,23±1,57	0,83
<i>N. glauca</i>	0,54	2,86±1,05	0,78
<i>G. lacustris</i>	0,40	3,01±1,48	0,82
<i>P. apterus</i>	0,68	3,55±1,51	0,69
<i>G. lineatum</i>	0,56	3,09±1,44	0,73
Гипотоническая среда			
<i>R. linearis</i>	0,41	3,27±1,57	0,83
<i>N. glauca</i>	0,51	2,32±1,96	0,75
<i>G. lacustris</i>	0,40	3,77±1,67	0,81
<i>P. apterus</i>	0,66	3,22±1,84	0,69
<i>G. lineatum</i>	0,53	3,33±1,49	0,72
Гипертоническая среда			
<i>R. linearis</i>	0,41	3,56±1,98	0,84
<i>N. glauca</i>	0,51	2,42±1,44	0,79
<i>G. lacustris</i>	0,40	3,19±1,52	0,84
<i>P. apterus</i>	0,65	3,75±1,87	0,66
<i>G. lineatum</i>	0,54	3,39±1,44	0,71

При воздействии осмотической нагрузки достоверных изменений показателей фагоцитарной активности амёбоцитов у представителей отряда Heteroptera не зафиксировано.

Для выявления способности амёбоцитов адаптироваться в условиях осмотической нагрузки определяли значения относительного мембранного резерва и интенсивности использования мембранного резерва (таблица 2).

Таблица 2

### Значения мембранного резерва амёбоцитов

Table 2

#### The value of amebocytes membrane reserve

Вид	Относительный мембранный резерв, $\mu\text{m}^2$	Интенсивность использования относительного мембранного резерва, %
<i>R. linearis</i>	30,93±0,37	13
<i>N. glauca</i>	14,56±0,66	44
<i>G. lacustris</i>	36,94±0,78	46
<i>P. apterus</i>	3,59±0,15	4
<i>G. lineatum</i>	34,47±0,83	19

Наибольшими значениями интенсивности использования мембранного резерва обладают амёбоциты *N. glauca* и *G. lacustris*. Гранулоциты *R. linearis* и *N. glauca*, сферулоциты *N. glauca*, а также веретеновидные клетки *R. linearis*, *N. glauca*, *G. lacustris*, *P. apterus* и *G. lineatum* не

задействуют мембранный резерв в условиях осмотической нагрузки.

Значение показателя флуоресценции родамина Б в нормальных условиях существенно различается у амёбоцитов изученных представителей отряда Heteroptera (таблица 3).

Таблица 3

### Интенсивность флуоресценции амёбоцитов в норме и в условиях осмотической нагрузки

Table 3

#### The fluorescence intensity of amebocytes in normal and in conditions of osmotic pressure

Вид	Интенсивность флуоресценции, усл. ед.		
	Изотоническая среда	Гипотоническая среда	Гипертоническая среда
<i>R. linearis</i>	202,25±38,21	482,59±98,52*	431,88±19,85*
<i>N. glauca</i>	407,59±86,85	412,39±72,16	161,76±61,82*
<i>G. lacustris</i>	477,78±95,62	400,18±55,88	208,49±74,66*
<i>P. apterus</i>	408,36±91,36	294,32±96,34	169,78±31,19*
<i>G. lineatum</i>	280,47±66,21	317,45±20,47	226,13±57,82

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

После помещения клеток в условия гипоосмотической нагрузки наблюдали рост значений флуоресценции амёбоцитов *R. linearis*. Увеличение осмотического давления раствора приводит к снижению уровня флуоресценции у амёбоцитов *N. glauca*, *G. lacustris*, *P. apterus*, а также к увеличению этого показателя у *R. linearis*.

Достоверных изменений уровня флуоресценции родамина Б, а соответственно и энергетики гранулоцитов, сферулоцитов и веретеновидных клеток установлено не было.

В условиях осмотической нагрузки показатели упругости, силы адгезии и микрорельефа клеточной мембраны амёбоцитов, гранулоцитов, сферулоцитов и веретеновидных клеток преимущественно не претерпевают достоверных изменений.

Гемоцитам членистоногих животных в целом, и представителей отряда Heteroptera в частности, присущи стереотипные реакции в

ответ на осмотическую нагрузку. В гипоосмотических условиях у клеток внутренней среды большинства изученных видов происходит увеличение объема и сглаживание плазмалеммы. При этом у представителей некоторых видов установлены атипичные реакции, при которых ответом на воздействие в гипертонической среде является увеличение линейных размеров гемоцитов и возрастание значений показателей упругости клеточной мембраны.

Воздействие осмотической нагрузки приводит к проявлению у гемоцитов нескольких общих реакций. Первая – это возрастание количества складок на поверхности клеточной мембраны, что происходит в том случае, если не использован весь мембранный резерв. После формирования складок происходит адгезия гемоцитов к субстрату, начинающаяся с образования циркулярной ламеллоплазмы и краевых раффов. Затем можно наблюдать закрепленную клетку с выступающей

центральной частью, которая содержит ядро и органоиды (т.к. в околоядерной области находится наибольшее количество фибрилл цитоскелета). После перераспределения компонентов цитоскелета происходит полное распластывание гемоцитов и целомоцитов по субстрату и прочная адгезия к поверхности. Распластывание по подложке происходит с разной скоростью, что зависит от осмотичности среды, видовой принадлежности животного и типа клетки.

Вторая реакция заключается в увеличении клеточного объема и усилении подвижности. Таким способом реагируют амебоидные элементы, которые выпускают большие филоподии, превышающие по длине клеточные размеры.

Третий вариант адаптации к осмотической нагрузке – это потеря способности к активному перемещению, поверхность клеточной мембраны становится складчатой, гемоциты и целомоциты перестают образовывать псевдоподии, приобретают округлую форму.

Закрепление клетки на субстрате, распластывание, проявление характеризующей данный тип клеток формы (поляризация), клеточная локомоция, могут быть обусловлены морфогенетическими клеточными реакциями: реакцией активного прикрепления, контактным торможением движения и реакцией стабилизации поверхности [15].

В результате прижизненного изучения гемоцитов отмечено, что распластывание на субстрате осуществляется путем последовательных стадий, которые могут быть приняты за уменьшение интенсивности локомоторной активности. Каждая из этих стадий может занимать разное время у разных типов гемоцитов. Клетка, осевшая на субстрат, в течение некоторого времени (10-20 минут) удерживает сферическую форму. Несмотря на первичное отсутствие контактных взаимодействий, клетка быстро, но очень непрочо, прикрепляется к субстрату. В основе первичного прикрепления лежат физические объемные взаимодействия между поверхностями субстрата и клетки. Затем на прикрепившейся клетке формируются морфологические структуры – филоподии или ламеллоподии. Последующее уплощение клетки связано с натяжением прикрепившихся к субстрату филоподий или ламеллоподий. Такое натяжение обусловлено образованием в этих структурах пучков микрофиламентов, вблизи контактных участков с субстратом.

В ходе распластывания клетки происходят изменения топографии ее поверхности. Рельеф поверхности сферической клетки, которая только что прикрепилась к субстрату, по ходу распластывания, обычно, постепенно

сглаживается, а у полностью распластанной клетки на поверхности мембраны нет каких-либо образований. Изменение микрорельефа поверхности мембраны достигается вследствие так называемого «расправления» микроворсинок, складок или пузырей. Площадь сферической клетки (учитывая поверхность разных морфологических структур) в целом соответствует общей площади этой же клетки, в момент достижения абсолютного распластывания на субстрате [3, 4].

Такой процесс перехода от сферической формы к состоянию полного распластывания у разных типов клеток занимает неодинаковое время. Распластывание – это процесс, зависящий от обмена веществ, поэтому на его скорость и морфофункциональные показатели влияют различные факторы. В связи с этим следует отметить, что реакции гемоцитов *in vivo* зависят не только от содержания и концентрации ионов в среде, но и от физиологического состояния организма, и емкости энергетических резервов клетки. Распластывание без затрат энергии происходить не может, а двигательная активность так же требует усиления обменных процессов.

### Заключение

Гемолимфа насекомых обладает большинством необходимых функций, несмотря на относительную простоту организации, и является индикатором физиологического состояния животного, а так же эволюционной ступени развития. Различные способы воздействий оказывают влияние на насекомых на физиологическом уровне и обуславливают их жизнеспособность. Антропогенные факторы оказывают комплексное действие на живые организмы в самых разнообразных сочетаниях. Их интегральное влияние возможно оценить, как по реакции отдельных организмов, так и целых сообществ. Возможно использование показателей иммунитета насекомых как критерия состояния их популяций и экосистем в целом в нормальных условиях и при техногенном воздействии. Одним из подходов к оценке состояния окружающей среды может быть оценка динамики клеточного состава гемолимфы насекомых, интенсивности ответной реакции гемоцитов на осмотическую нагрузку. Существенным показателем является доля фагоцитирующих гемоцитов, которые обеспечивают захват и ликвидацию чужеродных агентов, попадающих во внутреннюю среду организма. Через общее количество гемоцитов в единице объема гемолимфы и соотношение их основных типов представляется возможным дать характеристику состоянию популяции, ее устойчивости к факторам окружающей среды.

## Список литературы

1. Beckage N. Insect immunology. Academic Press, 2008. P. 25-49.
2. Ceraul S.M., Sonenshine D.E., Ratzlaff R.E., Hynes W.L. An arthropod defensin expressed by the hemocytes of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) // Insect Biochem. Mol. Biol. 2003. Vol. 33. P. 1099-1103.
3. Erickson C.A., Trinkaus J.P. Microvilli and blebs as sources of reserve surface membrane during cell spreading // Exp. Cell Res. 1976. Vol. 99. P. 375-384.
4. Follett E.A., Goldman R.D. The occurrence of microvilli during spreading and growth of BHK21/C13 fibroblasts // Exp. Cell Res. 1970. Vol. 59. P. 124-136.
5. Gandhe A.S., John S.H., Noduler N.J. A novel immune up-regulated protein mediates nodulation response in insects // J. Immunol. 2007. Vol. 179. P. 43-51.
6. Giulianini P.G., Bertolo F., Battistella S., Amirante G.A. Ultrastructure of the hemocytes of *Cetonischema aeruginosa* larvae (Coleoptera, Scarabaeidae): involvement of both granulocytes and oenocytoids in *in vivo* phagocytosis // Tissue and Cell. 2003. Vol. 35. P. 243-251.
7. Grebtsova E.A., Prisny A.A. Energetic and motion activity of hemocytes of Dictyoptera representatives // Научный результат. Серия Физиология. 2014. Том 1. № 2 (2). С. 41-43.
8. Lavine M.D., Strand M.R. Insect hemocytes and their role in immunity // Insect. Biochem. Mol. Biol. 2002. Vol. 32. P. 1295-1309.
9. Pandey J.P., Tiwari R.K., Kumar D. Reduction in hemocyte mediated immune response in *Danais chrysippus* following treatment with neem based insecticides // J. Entomol. 2008. Vol. 5. P. 200-206.
10. Prisny A. Motion activity and energetic of hemocytes of representatives of Dictyoptera order // Advances in Environmental Biology. 2014. Vol. 8 (13). P. 28-30.
11. Prisny A.A. Microrelief of Hirudinomorpha Hemocytes under Osmotic Stress // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015. Vol. 6 (5). P. 1558-1562.
12. Ribeiro C.M., Brehelin M. Insect haemocytes: What type of cell is that? // Journal of Insect Physiology. 2006. Vol. 52. P. 417-429.
13. Tiwari R.K., Pandey J.P., Kumar D. Effects of neem based insecticides on metamorphosis, haemocytes count and reproductive behavior in red cotton bug, *Dysdercus koenigii* Fabr. (Heteroptera: Pyrrhocoridae) // Entomology. 2006. Vol. 31. P. 267-275.
14. Tiwari R.K., Pandey J.P., Salehi R. Haemopoietic organs and effect of their ablation on total haemocyte count in lemon-butterfly, *Papilio demoleus* L // Indian J. Exp. Biol. 2002. Vol. 40. P. 1202-1205.
15. Vasiliev J.M., Gelfand I.M. Morphogenetic reaction and locomotory behaviour of transformed cells in culture // In: Fundamental aspects of metastasis. North-Holland Publish. Comp., 1976. P. 71-98.

## References

1. Beckage N. Insect immunology. Academic Press, 2008. P. 25-49.
2. Ceraul S.M., Sonenshine D.E., Ratzlaff R.E., Hynes W.L. An arthropod defensin expressed by the hemocytes of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) // Insect Biochem. Mol. Biol. 2003. Vol. 33. P. 1099-1103.
3. Erickson C.A., Trinkaus J.P. Microvilli and blebs as sources of reserve surface membrane during cell spreading // Exp. Cell Res. 1976. Vol. 99. P. 375-384.
4. Follett E.A., Goldman R.D. The occurrence of microvilli during spreading and growth of BHK21/C13 fibroblasts // Exp. Cell Res. 1970. Vol. 59. P. 124-136.
5. Gandhe A.S., John S.H., Noduler N.J. A novel immune up-regulated protein mediates nodulation response in insects // J. Immunol. 2007. Vol. 179. P. 43-51.
6. Giulianini P.G., Bertolo F., Battistella S., Amirante G.A. Ultrastructure of the hemocytes of *Cetonischema aeruginosa* larvae (Coleoptera, Scarabaeidae): involvement of both granulocytes and oenocytoids in *in vivo* phagocytosis // Tissue and Cell. 2003. Vol. 35. P. 243-251.
7. Grebtsova E.A., Prisny A.A. Energetic and motion activity of hemocytes of Dictyoptera representatives // Научный результат. Серия Физиология. 2014. Том 1. № 2 (2). С. 41-43.
8. Lavine M.D., Strand M.R. Insect hemocytes and their role in immunity // Insect. Biochem. Mol. Biol. 2002. Vol. 32. P. 1295-1309.
9. Pandey J.P., Tiwari R.K., Kumar D. Reduction in hemocyte mediated immune response in *Danais chrysippus* following treatment with neem based insecticides // J. Entomol. 2008. Vol. 5. P. 200-206.
10. Prisny A. Motion activity and energetic of hemocytes of representatives of Dictyoptera order // Advances in Environmental Biology. 2014. Vol. 8 (13). P. 28-30.
11. Prisny A.A. Microrelief of Hirudinomorpha Hemocytes under Osmotic Stress // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015. Vol. 6 (5). P. 1558-1562.
12. Ribeiro C.M., Brehelin M. Insect haemocytes: What type of cell is that? // Journal of Insect Physiology. 2006. Vol. 52. P. 417-429.
13. Tiwari R.K., Pandey J.P., Kumar D. Effects of neem based insecticides on metamorphosis, haemocytes count and reproductive behavior in red cotton bug, *Dysdercus koenigii* Fabr. (Heteroptera: Pyrrhocoridae) // Entomology. 2006. Vol. 31. P. 267-275.
14. Tiwari R.K., Pandey J.P., Salehi R. Haemopoietic organs and effect of their ablation on total haemocyte count in lemon-butterfly, *Papilio demoleus* L // Indian J. Exp. Biol. 2002. Vol. 40. P. 1202-1205.
15. Vasiliev J.M., Gelfand I.M. Morphogenetic reaction and locomotory behaviour of transformed cells in culture // In: Fundamental aspects of metastasis. North-Holland Publish. Comp., 1976. P. 71-98.