

На правах рукописи



КЛИМЕНКОВ Игорь Викторович

**АДАПТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ В СИСТЕМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО
ОТДЕЛА ОБОНЯТЕЛЬНОГО И СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРОВ У РЫБ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена на базе отдела Ультраструктуры клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (г. Иркутск), а также на кафедре физико-химической биологии биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета.

Научный консультант: **Косицын Николай Степанович** – д.б.н., профессор, главный научный сотрудник Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва

Официальные оппоненты: **Рябчикова Елена Ивановна** – д.б.н., профессор, главный научный сотрудник, руководитель группы микроскопических исследований, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

Шестопалова Лидия Владимировна – д.б.н., профессор кафедры физиологии, Новосибирский государственный университет

Мошкин Михаил Павлович – д.б.н., профессор, главный научный сотрудник отдела генетических ресурсов лабораторных животных, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск

Защита диссертации состоится «___»_____2019 г. на утреннем заседании диссертационного совета Д 003.011.01 на базе ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН» в конференц-зале Института по адресу: пр. академика Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090 тел: +7(383) 363-49-06 (1321); e-mail: dissov@bionet.nsc.ru. факс: +7(383) 333-12-78

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института: www.bionet.nsc.ru.

Автореферат разослан

«___»_____2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, доктор
биологических наук



Т.М. Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время одной из важных проблем является изучение фундаментальных механизмов адаптивного функционирования обонятельного (ольфакторного) анализатора животных в связи с его особой ролью при формировании пищевого, репродуктивного и других сложных форм поведения. В первую очередь, эти вопросы касаются расшифровки цитологических механизмов, которые обеспечивают процессы хеморецепции на уровне периферического отдела обонятельной системы [Doty, 2015]. В частности, у рыб, попытки выявить корреляции между структурным полиморфизмом рецепторных нейронов, их чувствительностью и реализацией конкретных форм поведения не дали пока однозначных результатов [Hara, Zielinski, 2006; Hamdani *et al.*, 2008; Пащенко, Касумян, 2015]. В связи с этим, одной из важных задач является выявление морфофункциональных критериев разных уровней чувствительности рецепторных нейронов у рыб на ключевых этапах их жизненного цикла, когда у них существенно изменяется спектр воспринимаемых запаховых веществ [Dmitrieva, Kozlov, 2010]. Недостаточно изученными являются также процессы обонятельного нейрогенеза в норме [Brann, Firestein, 2014] и при длительном воздействии различных факторов внешней среды, включая вещества нетоксичной природы. В этом отношении большой интерес представляет изучение структурно-функциональных свойств рецепторных клеток не только при разном химизме окружающей среды, но и в условиях действия широкого спектра гидростатических давлений. Это важно для понимания механизмов адаптивного поведения гидробионтов, которые в ходе эволюции освоили различные водные горизонты. Работы, посвященные этим проблемам, как правило, не охватывают глубоководных рыб в связи с ограниченностью их доступа, или затрагивают только общие анатомические сведения [Herring, 2002]. Изучение обонятельной

системы у гидробионтов с экстремальными по глубине условиями существования может способствовать выявлению цитологических и молекулярных механизмов, обеспечивающих их устойчивость к гипоксии и сохранность хемосенсорного поведения при переменных режимах гидростатических давлений. Это также касается вопросов функционирования слухового аппарата у рыб, которые широко используют акустические сигналы для формирования различных форм поведения [Павлов, Касумян, 1991; Лычаков, 1994; Popper *et al.*, 2005]. Существенные отличия образа жизни у различных представителей байкальской ихтиофауны использованы нами в качестве естественной модели для выявления морфо-функциональных адаптаций обонятельного и слухового анализаторов у рыб, эволюционно приспособленных к жизнедеятельности в разных экологических нишах.

Цель работы: выявить цитохимические перестройки в сенсорных отделах обонятельной и акустической систем у рыб в связи с их экологией, поведением и спецификой сенсорной нагрузки.

Задачи:

1. Охарактеризовать адаптивные цитохимические перестройки клеток обонятельного эпителия у рогатковидных рыб (сем. Cottidae) на разных этапах их жизненного цикла и репродуктивного поведения.
2. Оценить соотношение процессов апоптоза и нейрогенеза, а также другие цитохимические показатели клеток обонятельного эпителия у рыб в контроле и после продолжительного воздействия одорантов нетоксичной природы.
3. Исследовать морфологические особенности ранних стадий дифференцировки рецепторных нейронов, обеспечивающие их миграцию в эпителии и дальнейшее созревание.
4. Выявить структурно-функциональные особенности клеток обонятельного эпителия у некоторых байкальских пелагических и бентосных рогатковидных рыб в связи с разными стратегиями их пищевого поведения.

5. Охарактеризовать специфику морфологической организации саккулярного аппарата органа слуха у прибрежных и пелагических видов рыб озера Байкал.
6. Определить диапазоны акустической чувствительности у разных видов сиговых (сем. Coregonidae) и рогатковидных байкальских рыб в связи с их экологией и поведением.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Ультраструктурные перестройки рецепторного аппарата обонятельного эпителия у рыб обеспечивают различную функциональную специализацию этих клеток, необходимую для реализации их репродуктивного поведения.
2. Деструкция ядра, вакуолизация мембранных структур и деградация митохондрий являются характерными нейродегенеративными нарушениями клеток обонятельного эпителия у глубоководных бентосных рыб при гипобарической гипоксии. Такие изменения несвойственны для пелагических рыб, адаптированных к изменениям гидростатических давлений в результате их периодических вертикальных пищевых миграций.
3. Одорант-зависимый апоптоз рецепторных клеток обонятельного эпителия у рыб компенсаторно активизирует процессы естественного нейрогенеза. Ранние этапы дифференцировки обонятельных нейронов сопровождаются примембранной полимеризацией актиновых микрофиламентов, что обеспечивает реорганизацию органелл клеток, необходимую для их миграции, упорядоченного позиционирования в виде доменов и дальнейшего созревания.
4. Морфологическая организация саккулярных волосковых клеток органа слуха и их дирекционная чувствительность у прибрежных и пелагических видов рыб озера Байкал в большей степени определяются особенностями их экологической ниши, чем принадлежностью к той или иной таксономической группе.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Впервые установлено, что сенсорный аппарат пелагических рыб показывает существенно большую, чем у бентосных, структурно-функциональную устойчивость к гипобарической гипоксии, что, по-видимому, является результатом их гипоксического прекондиционирования, возникающего в ходе постоянных вертикальных миграций рыб в процессе пищевого поведения.

Показано, что у рыб в репродуктивный период в обонятельных рецепторных клетках возникают ультраструктурные перестройки, которые направлены как для восприятия феромонов во время химической коммуникации половых партнеров, так и на последующее выключение этой функции в фазу перехода рыб к родительскому поведению.

Впервые описан феномен трансформации рецепторных нейронов в клетки с дендритной нейросекрецией, что свидетельствует об их способности к изменению функциональных свойств.

Впервые обосновывается положение о том, что цитоскелет в дендритах рецепторных клеток формируется не только при значительных функциональных нагрузках в период нереста, но и в условиях низкого содержания в воде химических агентов. При одорантной депривации хорошо организованная система микротрубочек дендритов может быть необходимым фактором поддержания их структурно-функциональной целостности.

Впервые показано, что длительная хемотимуляция рыб нетоксичными водорастворимыми веществами вызывает избирательную дифференцировку и программированную гибель отдельных клеток периферического отдела обонятельного анализатора, что приводит к компенсаторному усилению процессов нейрогенеза.

Установлено, что в ходе нейрогенеза в обонятельном эпителии рыб формируются пространственно разграниченные домены из молодых клеток, которые могут участвовать в рецепции одорантов в качестве отдельных морфо-функциональных единиц.

Показано, что актиновые микрофиламенты выполняют важную роль как на ранних, так и на завершающих этапах структурной дифференцировки рецепторных клеток. В процессе миграции молодого нейрона значительная доля его ядерного материала проникает внутрь дендрита, в примембранном слое которого формируется плотный актиновый кортекс. Благодаря этому клетка принимает наиболее удобную форму для перемещения в межклеточном пространстве. После установления связи терминали дендрита с внешней средой в примембранном слое F-актина формируется пора, через которую от одорант-связывающих рецепторов может проходить первый внутриклеточный сигнал, необходимый для стабилизации экспрессии гена, кодирующего обонятельные рецепторы.

Впервые на взятых из естественной среды оз. Байкал представителях ихтиофауны показано, что саккулярные макулы у рыб из разных таксономических групп, занимающих одинаковые экологические ниши, имеют идентичные морфотипы волосковых клеток и их поляризацию, что обеспечивает сходство их дирекционной акустической чувствительности.

Практическая значимость работы

Разработанный метод неинвазивной активизации процессов нейрогенеза в ольфакторном эпителии позволяет *in vivo* формировать обогащенный пул малодифференцированных нейральных клеток, культивирование и аутологическая трансплантация которых может быть использована в медицине при лечении травматических повреждений нервной системы. Выявленные факты структурно-функциональной устойчивости ольфакторного аппарата глубоководных рыб к перепадам гидростатических давлений могут быть использованы для поиска молекулярных нейропротекторов, повышающих устойчивость мозга к ишемическим повреждениям, возникающим при гипоксии или в связи с развитием других нейродегенеративных заболеваний.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на Всероссийской конференции «Восстановительная неврология-3» (Москва, 1995), 4th IBRO World Congress of Neuroscience (Kyoto, 1995), Schloessmann Seminar on «Nanostructures in Biology, Chemistry and Physics» (Elmay, Germany 1996); XV-й Международной конференции по нейрокибернетике (ICNC-09, Ростов-на-Дону, 2009), III-ем Съезде физиологов СНГ (Ялта, 2011), Международных междисциплинарных конгрессах «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Украина, 2012, 2013), Международных конференциях Хромосома-2012, 2015 (Новосибирск, 2012, 2015), Первой Международной Сибирской конференции по нейробиологии (Иркутск, 2013), научно-практическом семинаре «Инновационные технологии Carl Zeiss» (Новосибирск, 2013), XII International Symposium on the biology and management of Coregonid fishes (Иркутск, 2014), II-ой Всероссийской конференции: «Внутриклеточная сигнализация, транспорт, цитоскелет» (Санкт-Петербург, 2015), XIV-м Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2018).

Вклад автора. Автором обоснованы и поставлены цели и задачи исследования, определены подходы к их решению, разработаны методы проведения наблюдений и экспериментов, интерпретированы полученные результаты, сформулированы основные выводы и научные положения.

Публикации. По теме диссертации опубликована 21 работа в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных исследований на соискание ученой степени доктора биологических наук.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 370 страницах, содержит 123 рисунка, включая 31 схему, 4 таблицы и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 548 цитируемых источника.

Благодарности. Выражаю искреннюю благодарность коллегам, внесшим существенный вклад в эту работу: к.б.н., Н.П. Судакову, к.б.н. М.В. Пастухову, к.б.н. Ю.П. Сапожниковой, А.В. Курылеву, к.б.н. В.М. Яхненко, А.В. Натягановой, А.П. Лопатину, В.И. Егорову, к.х.н. В.А. Уманцу, К.Ю. Арсентьеву, М.М. Масленниковой, к.г.н. В.А. Фиалкову, В.В. Пастухову и к.б.н. О.Ю. Глызиной. Слова особой благодарности выражаю моему научному консультанту – д.б.н., профессору Н.С. Косицыну, а также, д.б.н., профессору Т.М. Дмитриевой, д.б.н., профессору Ю.П. Козлову, д.б.н., профессору Е.В. Лихошвай и академику М.А. Грачеву.

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение адаптивных перестроек в ольфакторном аппарате у рыб на разных этапах их жизненного цикла и нерестового поведения проводили на желтокрылке (*Cottocomephorus grewingkii* Dybowski, 1874).

Для сравнительной оценки ультраструктурных особенностей обонятельного эпителия у глубоководных рыб исследовали образцы тканей у трех представителей рогатковидных рыб (Cottoidei) оз. Байкал – большой голомянки (*Comephorus baicalensis* Pallas, 1776), длиннокрылой (*Cottocomephorus inermis* Jakowlew 1890) и жирной широколобок (*Batrachocottus nikolskii* Berg, 1900). Изучение цитохимических особенностей клеток сенсорного эпителия в контроле и после длительной (15 сут) запаховой стимуляции нетоксичными одорантами проводили на каменной широколобке (*Paracottus knerii* Dybowski, 1874), жемчужном гурами (*Trichogaster leeri* Bleeker, 1852) и гольяне обыкновенном (*Phoxinus phoxinus* Linnaeus, 1758). При этом рыб содержали в аквариумах в стандартных условиях питания и кислородного режима с добавлением гетерогенной смеси аминокислот и пептидов (массовая доля – 0,0002 %, Tryptone, Helicon).

Слуховой саккулярный аппарат исследовали у байкальских рогатковидных рыб: большой (*C. baicalensis*) и малой (*C. dybowski* Korotneff, 1905) голомянок, северобайкальской желтокрылки (*Cottocomephorus alexandrae* Taliev, 1935), каменной широколобки (*P. Knerii*), а также у байкальских сиговых рыб: байкальского омуля (*Coregonus migratorius* Georgi, 1775), мелководного озерно-речного сига (*C. lavaretus pidschian* Gmelin, 1788) и озерного сига (*C. baicalensis* Dybowski, 1876). Всего для разных целей использовано 237 экз. рогатковидных, 61 экз. сиговых рыб, а также 10 экз. голянов и 17 экз. жемчужных гурами. Все представители Cottoidei и Coregonus были отловлены с помощью ставных сетей или водолазных работ в 1982–2016 гг. в районе Южного Байкала. Один экземпляр жирной широколобки выловлен на дне озера (глубина 1147 м) у полуострова Святой Нос с помощью глубоководного аппарата МИР-2 в июле 2009 г.

Ольфакторные розетки и саккулярные макулы рыб исследовали с помощью просвечивающей (Leo 906 E, Zeiss) и сканирующей (FEI Company Quanta 200) электронной микроскопии, а также методами лазерной конфокальной микроскопии (LSM 710, Zeiss). Тест на функционально активные митохондрии в клетках обонятельного эпителия проводили с помощью MitoTracker® Orange (Thermo Fisher Scientific Inc., USA); для выявления областей продукции активных форм кислорода (АФК) использовали CellROX® Deep Red Reagent (Thermo Fisher Scientific Inc., USA); цитохимическое выявление программированной гибели клеток проводили методом Click-iT® TUNEL [Gavrieli, *et al.*, 1992]; оценку пролиферативной активности производили с помощью бромдезоксидуридина (BrdU) [Gratzner, 1982]. Визуализация актиновых филаментов проводилась с помощью фаллоидина, меченого FITC; для выявления ядрышек внутри ядер обонятельных клеток препараты окрашивали с помощью азотнокислого серебра по методу Ховелла и Блейка [Howell, Black, 1980].

Изображения, полученные с помощью LSM 710, анализировали в двух программах: ZEN 2010 (Zeiss) и Imaris® Bitplane 7.2.3. В каждом из полученных Z-стеков определяли объемы, занимаемые флуоресцентным маркером.

Полученную информацию суммировали и обрабатывали методами непараметрической статистики. Межгрупповые различия оценивали критерием Краскела-Уоллиса, применяя пакет программ Statistica 10 и Microsoft Excel 2010.

Отолиты изучали в полуконтактной моде с помощью мультимодового сканирующего зондового микроскопа Solver P-47 (НТ-МДТ, Москва). Определение диапазонов акустической чувствительности у рыб производили с помощью условно-рефлекторного метода с пищевым подкреплением воспринимаемых звуковых сигналов в тестах «открытое поле». Регистрацию поведенческой активности рыб после предъявления разночастотных (от 100 Гц до 5 кГц, через каждые 100 Гц при громкости звука от 0 до 160 дБ) стимулов проводили с помощью программно-аппаратного комплекса EthoStudio [Куликов, Сапожникова, 2011].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ультраструктурные особенности обонятельного эпителия у рогатковидных рыб

Морфологические особенности сенсорного аппарата у разных видов рогатковидных рыб сходны: ольфакторные розетки образованы 5–6 складками, причем, как и у всех позвоночных, хемочувствительный эпителий включает в себя клетки трех типов – рецепторные, опорные и базальные (рис. 1). Рецепторные нейроны жгутикового и микровиллярного типа с количественным преобладанием первых, причем, их внутренняя структура существенно зависит от экологии, фазы жизненного цикла и поведения гидробионтов.

Адаптивные цитохимические особенности обонятельного аппарата у глубоководных рогатковидных рыб (Cottoidei) озера Байкал

Бентосные рыбы. У жирной широколобки в условиях повышенной сенсорной нагрузки хеморецепторные клетки содержат хорошо развитый аппарат Гольджи, гранулы липофусцина и насыщены как свободными, так и связанными с

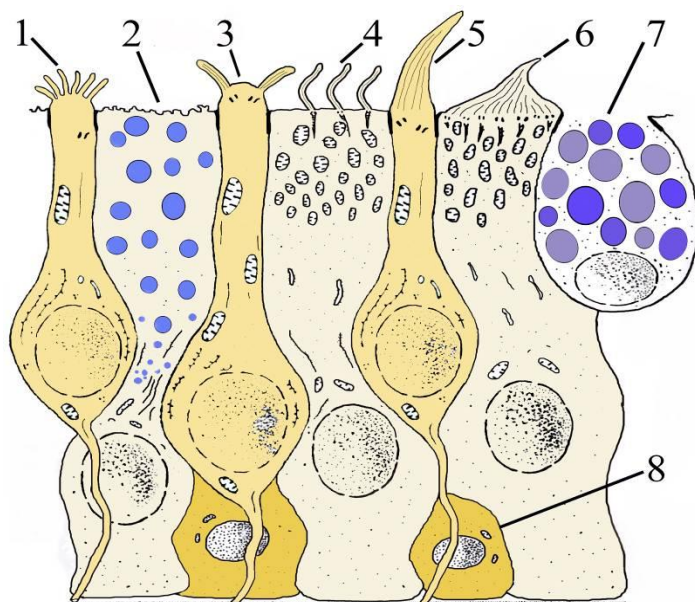


Рис. 1. Строение обонятельного эпителия у байкальских *Cottoidei*. 1 – микровиллярная рецепторная клетка; 2 – секреторная опорная клетка; 3 – рецепторная клетка жгутикового типа; 4 – мерцательная опорная клетка; 5 – рецепторная клетка с комплексным жгутиком; 6 – опорная клетка с комплексным жгутиком; 7 – бокаловидная клетка; 8 – базальная клетка.

каналами эндоплазматического ретикулума рибосомами. В результате подъема рыб на поверхность в большинстве клеток наблюдается фрагментация и вакуолизация каналов эндоплазматического ретикулума и набухание митохондрий. Конфокальная микроскопия окрашенных MitoTracker® Orange препаратов показывает, что в отличие от пелагических рыб, объем, занимаемый функционально активными митохондриями в сенсорном эпителии у бентосных рыб снижен в 2 раза ($p = 0,047$) в сравнении с большой голомянкой и в 1,7 раз ($p = 0,119$), в сравнении с длиннокрылкой. Такие показатели функционального состояния митохондрий не свойственны для байкальских широколобок, которые обитают в прибрежной зоне озера и не испытывают перепадов гидростатических давлений.

Пелагические рыбы. Для рецепторных клеток большой голомянки и длиннокрылой широколобки характерны ультраструктурные признаки пониженной функциональной активности. Они имеют просветленный, обедненный внутриклеточными структурами матрикс, благодаря чему хорошо выделяются на фоне более темных опорных клеток эпителия. В цитоплазме располагаются слабо выраженный аппарат Гольджи, гранулы липофусцина, редкие рибосомы и крупные (0,2–2 мкм) вакуолеподобные образования, возникшие вследствие фрагментации и набухания каналов эндоплазматического ретикулума. Несмотря на слабый уровень развития внутриклеточных органелл, в

рецепторных клетках выявляются хорошо выраженные микротрубочки. В центральной части клеток и в их дендритах локализуются мелкие (0,2–0,3 мкм) немногочисленные митохондрии без признаков набухания и дегенерации. Конфокальная микроскопия также подтверждает функциональную стабильность данных органелл.

Сравнение цитологических данных показывает, что в отличие от бентосных, у пелагических рыб, обитающих в широком диапазоне гидростатических давлений, на уровне периферического отдела обонятельного анализатора существуют механизмы, которые в экстремальных условиях острой гипоксии могут поддерживать стабильность клеток и их органелл, в частности, митохондрий. Глубоководные рыбы в ходе пищевого поведения периодически перемещаются вслед за объектами своего питания из больших глубин в область низких гидростатических давлений, и наоборот. Возможно, что такой повторяющийся режим действия высоких и низких давлений мог обеспечить в эволюции рыб формирование соответствующих метаболических адаптаций. Таким образом, хорошая сохранность митохондрий в клетках обонятельной системы пелагических рыб может быть обусловлена протективным эффектом гипоксического прекондиционирования, возникающем вследствие вертикальных миграций гидробионтов.

Кроме того, в дендритах рецепторных клеток у пелагических рыб хорошо выявляется развитая система микротрубочек. Обычно элементы цитоскелета в обонятельных клетках рогатковидных рыб обнаруживаются в нерестовый период при их настройке на восприятие половых феромонов, или после длительного содержания в чистой, обедненной органическими веществами воде. Эти данные говорят о том, что микротрубочки являются важным компонентом, обеспечивающим структурную целостность дендритов хемочувствительных клеток при низкой концентрации сенсорных сигналов во внешней среде. Следовательно, микротрубочки в цитоплазме дендрита формируются не только при значительных функциональных нагрузках обонятельного анализатора в

период нереста, но и в условиях низкого содержания в воде химических агентов, что характерно для олиготрофного озера Байкал.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень развития клеток ольфакторного эпителия и их устойчивость к гипоксии существенно зависят от экологии и особенностей пищевого поведения глубоководных рыб. При подъеме жирной широколобки (типичного представителя байкальских рыб с придонным образом жизни) на поверхность, клетки эпителия претерпевают наиболее выраженные ультраструктурные перестройки. В сравнении с этим, обонятельный аппарат большой голомянки и длиннокрылой широколобки, пищевое поведение которых связано с сезонными и суточными вертикальными миграциями и изменениями гидростатических давлений, в меньшей степени подвержен ультраструктурным повреждениям. Таким образом, установлено, что разные виды рыб, различающиеся стратегиями пищевого поведения, имеют неодинаковую устойчивость к гипобарической гипоксии.

Цитохимические перестройки клеток обонятельного эпителия у желтокрылки в разные фазы жизненного цикла и репродуктивного поведения

В сравнении с донерестовым периодом, у рыб во время формирования полового поведения в обонятельных клетках появляются признаки интенсивных ядерно-цитоплазматических взаимодействий. В начальную фазу нереста в цитоплазме клеток содержится увеличенное (в 1,2–1,4 раза) число, как свободных, так и связанных с каналами ретикулума рибосом. Кроме клеток с неизменной вершиной (рис. 2, а) выявляются клетки с упорядоченной пространственной организацией микротрубочек, которые выстраиваются вдоль дендрита, заканчиваясь в матриксе обонятельной булавки (рис. 2, б). Предполагается, что данные ультраструктурные перестройки обеспечивают повышенную хемочувствительность обонятельных клеток к половым феромонам. При переходе рыб к родительскому поведению (охрана икры и обеспечение ее жизнеспособности) в клетках поддерживается высокий уровень ядерно-

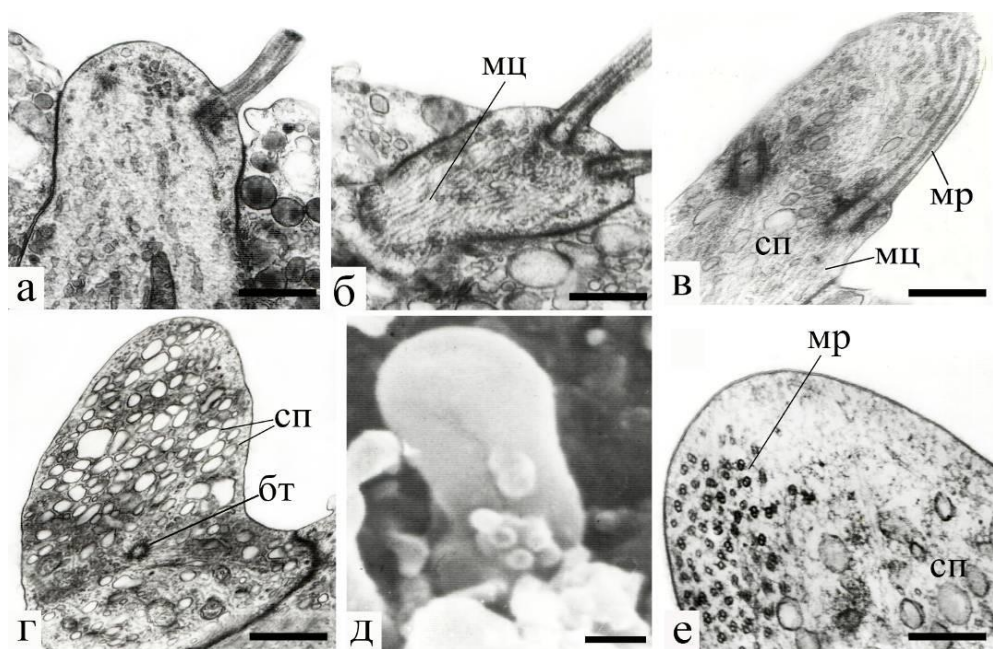


Рис. 2. Ультраструктурные перестройки вершин рецепторных клеток у *C. grewingkii* в разные фазы жизненного цикла и репродуктивного поведения: а – межнерестовый период, б – клетка перенастраивается на восприятие феромонов во время нереста; формируется упорядоченная система микротрубочек; в – ресничка погружена внутрь дендрита; г – вершина клетки в фазу дендритной нейросекреции; д – вершина клетки без жгутиков; е – дезагрегация микротрубочек, погруженных внутрь клетки. Условные обозначения: сп – секреторные пузырьки; бт – базальное тельце; мц – цитоплазматические микротрубочки; мр – микротрубочки реснички. Масштаб: 1 мкм.

цитоплазматических взаимодействий и повышенное количество рибосом. В эту фазу нерестового поведения активизируется секреторная активность аппарата Гольджи, производящего многочисленные везикулы (0,1 до 0,5 мкм), которые с помощью микротрубочек транспортируются к вершине клетки, где они встраиваются в поверхностную мембрану клетки. Вследствие этого, клетка переходит на режим дендритной секреции (рис. 2, в-д). В ходе данных перестроек хемочувствительные реснички погружаются внутрь клетки и теряют способность к хеморецепции. По морфологическим признакам видоизмененная терминаль дендрита напоминает передний участок растущего аксона – конус роста. Далее, микротубулы «погруженных» ресничек подвергаются дезагрегации, в результате чего приобретают вид неупорядоченно расположенных одиночных или

сдвоенных микротрубочек (рис. 2, е). В ходе данных структурных изменений площадь рецепторной поверхности клеток резко снижается, что может лежать в основе адаптивного ослабления ольфакторной чувствительности у самцов, когда они приступают к охране икры. Таким образом, установлено, что уровень структурного развития клеток ольфакторного эпителия у рыб зависит от фазы их жизненного цикла и поведения. В частности, в нерестовый период в рецепторных клетках формируются перестройки, направленные как на повышение готовности этих клеток к рецепции половых феромонов, так и на дальнейшие активные изменения, которые сопровождаются реализацией родительского поведения.

Стимул-зависимая дифференцировка и нейрогенез в обонятельном эпителии у рыб

Впервые выявленный у рыб феномен трансформации рецепторных нейронов в клетки секреторного типа ставит вопрос о механизмах, запускающих такое преобразование клеток и об универсальности данного физиологического явления в рамках функционирования сенсорного аппарата у животных, принадлежащих разным систематическим группам.

Учитывая, что дифференцировка клеток сенсорного эпителия может зависеть не только от гормональных перестроек в организме [Ploss *et al.*, 2014; Wirsig-Wiechmann, 2001], но и от действия химических факторов внешней среды [Harden *et al.*, 2006], исследовали ультраструктурные перестройки рецепторных клеток после их длительной одорантной стимуляции.

У разных видов рыб представлено от нескольких десятков до 150 функционально активных генов [Saraiva, Korsching, 2007; Alioto, Ngai, 2005], кодирующих обонятельные рецепторы, каждый из которых экспрессируется в отдельном нейроне и предопределяет его моноспецифичность [Buck, Axel, 1991]. В связи с этим, для изучения роли длительной запаховой стимуляции в трансформации клеток на режим дендритной нейросекреции, в качестве одорантов использовали гетерогенную смесь аминокислот и пептидов. По нашим представлениям, это должно существенно увеличить число активированных

нейронов и таким образом позволит создать более подходящие условия для их хемотимуляции. В связи с этим, в обонятельном эпителии каменной широколобки с помощью конфокальной микроскопии оценивали уровень АФК, количество функционально активных митохондрий, интенсивность процессов апоптоза (Метод Click-iT® TUNEL) и митотическую активность (12 ч. инкубации BrdU) клеток в контроле и после длительного (15 сут) одорантного воздействия гетерогенной смеси аминокислот и пептидов.

Установлено, что после такой запаховой экспозиции в эпителии наблюдаются избирательные структурные перестройки рецепторных нейронов. Кроме клеток со свойственным для контроля уровнем развития внутриклеточных компонентов выявлялись также немногочисленные (3–5 %) нейроны, у которых возрастает интенсивность ядерно-цитоплазматических взаимодействий, увеличивается количество как свободных, так и связанных с каналами ретикулума рибосом. В это время активируется аппарат Гольджи, причем секреторные пузырьки направляются к апикальному участку клетки, где сливаются с поверхностной мембраной, выделяя содержимое в обонятельную слизь.

Сравнительный анализ полученных данных показывает, что в период феромональной коммуникации рыб, или после их продолжительной одорантной стимуляции, динамика морфологических перестроек обонятельных клеток сходна с таковой у В-лимфоцитов иммунной системы в процессе их стимулзависимой дифференцировки. Таким образом, феноменологически общими с В-клетками свойствами рецепторных клеток являются не только полиморфизм семейства генов, кодирующих одорант-связывающие рецепторы [Buck, Axel, 1991] и их моноспецифичность [Chess *et al.*, 1994], но и способность к переключению на режим секреции. В ольфакторных нейронах данный процесс запускается через терминаль дендрита.

Характерно, что у 10–15 % рецепторных нейронов из экспериментальной группы рыб каналы эндоплазматического ретикулума фрагментированы и в отдельных участках расширены. В дендритном отростке они содержат полностью,

или частично набухшие митохондрии. Нарушение структуры митохондрий наблюдается также и в опорных элементах эпителия – в мерцательных и секреторных клетках. Селективная окраска эпителия на функционально активные митохондрии показывает, что при такой избыточной хемотимуляции доля интактных митохондрий снижается в 6,2 раза ($p_u \leq 0,05$). Кроме того, показано, что после пролонгированного воздействия одорантов на фоне повышения (в 3,5 раза, $p_u \leq 0,05$ в сравнении с контролем) уровня АФК в эпителии рыб в 4,5 раза ($p_u \leq 0,05$) увеличивается число клеток с фрагментированной ядерной ДНК (рис. 3).

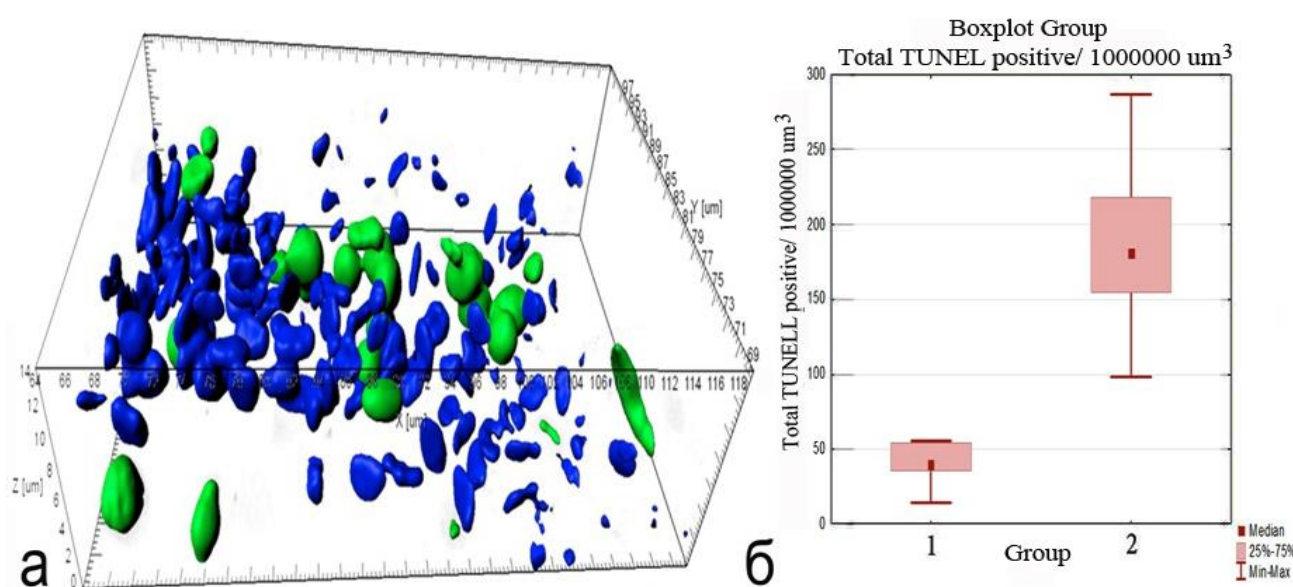


Рис. 3. Усиление процессов программированной клеточной гибели в обонятельном эпителии у *T. leeri* после продолжительной (15 сут) хемотимуляции гетерогенной смесью аминокислот и пептидов. Метод Click-iT® TUNEL; а – фрагмент эпителия в эксперименте; ядра погибших клеток окрашены Alexa Fluor488 (зеленый); жизнеспособные – Hoechst33342 (синий); конфокальная микроскопия; 3D-реконструкция; б – график, отражающий активацию процессов апоптоза (1 – контроль; 2 – эксперимент) по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия); * $p_u \leq 0,05$ в сравнении с контролем.

Это свидетельствует о том, что кроме структурно-функциональных повреждений митохондрий и формирования энергодефицита в деструктивные внутриклеточные перестройки вовлечены и АФК, активирующие программированную гибель клеток. Выявленные факты говорят о том, что дегенеративные изменения в

обонятельных клетках являются следствием их длительной стимуляции ольфакторным раздражителем. Таким образом, усиленное воздействие одорантов вызывает в обонятельной системе цитохимические перестройки как рецепторных, так и глиальных клеток, часть из которых далее подвергается гибели.

В связи с наблюдаемыми картинами дегенеративных изменений клеток в сенсорном аппарате экспериментальных рыб, оценивали возможность компенсаторных процессов нейрогенеза, который поддерживается за счёт митотической активности расположенных здесь базальных (региональных стволовых) клеток [Iwai *et al.*, 2008]. Сравнительная оценка количества BrdU-положительных клеток (12 ч. инкубации BrdU) в нейроэпителии показывает, что у стимулированных пептидной смесью рыб интенсивность деления клеток существенно увеличивается и превышает таковую в контроле в 3,2 раза ($p_u \leq 0,05$) (рис. 4). При этом наблюдается уменьшение объема, занимаемого мелкими

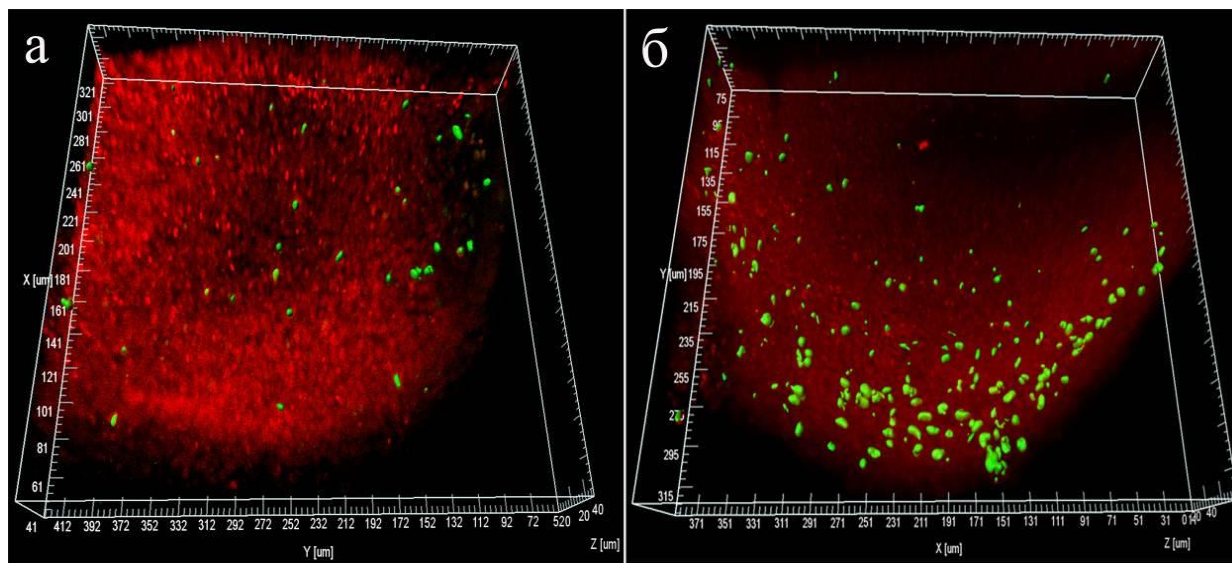


Рис. 4. Эффект усиления процессов нейрогенеза в обонятельных складках у *P. kneri* в контроле (а) и после интенсивной хемотимуляции гетерогенной смесью аминокислот и пептидов (б); 12 ч. инкубации BrdU. Избирательная окраска ядер клеток, включивших BrdU, с помощью антител, меченых FITC к BrdU (зеленый). Неделющиеся ядра клеток окрашены 7-аминоактиномицином D (красный); конфокальная микроскопия; 3D-реконструкции.

(до 10 клеток) кластерами молодых клеток и возрастание доли сегментов эпителия, состоящих из более крупных их скоплений (10–20 клеток) (рис. 5).

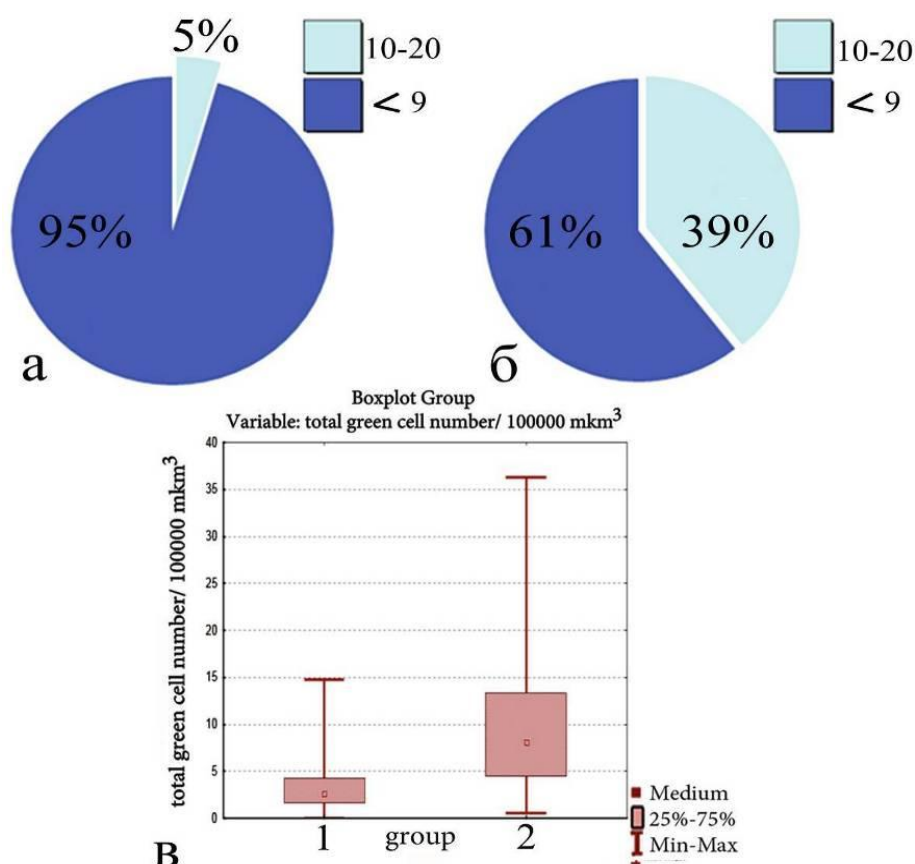


Рис. 5. Сравнительная оценка процессов нейрогенеза в обонятельной розетке у *P. knerii* в контроле (а) и после длительной хемотимуляции смесью аминокислот и пептидов (б). В контроле на мелкие (<10 клеток) кластеры клеток приходится 95 % объема эпителия. В эксперименте происходит возрастание объема зон эпителия, в котором локализуются крупные (10–20 клеток) кластеры клеток, включивших BrdU; в – график, отражающий усиление процессов нейрогенеза: 1 – контроль; 2 – эксперимент ($p < 0,001$); график построен по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия). $*p_{\text{H}} \leq 0,05$ в сравнении с контролем.

Эти данные указывают, что в ходе усиленной запаховой стимуляции и последующих дегенеративных изменений в процессы компенсаторного нейрогенеза вовлекаются новые стволовые клетки, расположенные в ранее пролиферативно неактивных сегментах эпителия. Из этого следует, что процессы нейрогенеза в сенсорном отделе обонятельного анализатора животных могут быть активированы не только после аксотомии обонятельного нерва [Schwob, 2002], бульбэктомии [Makino *et al.*, 2009], или острых токсических воздействий

[Schwob *et al.*, 1995; Frontera *et al.*, 2016], но и в результате повышенных режимов воздействия нетоксичными запаховыми стимулами. Продолжительная одорантная стимуляция рецепторных клеток вызывает их апоптоз и последующую активацию регенеративных процессов.

Особенности миграции новообразованных клеток в обонятельном эпителии у рыб через 36 часов после инъекции BrdU

На данном сроке инкубации с BrdU, клетки, включившие метку, выявляются только в поверхностном слое эпителия, где образуют очень крупные клеточные скопления (рис. 6). Они насчитывают до 150 или большее количество

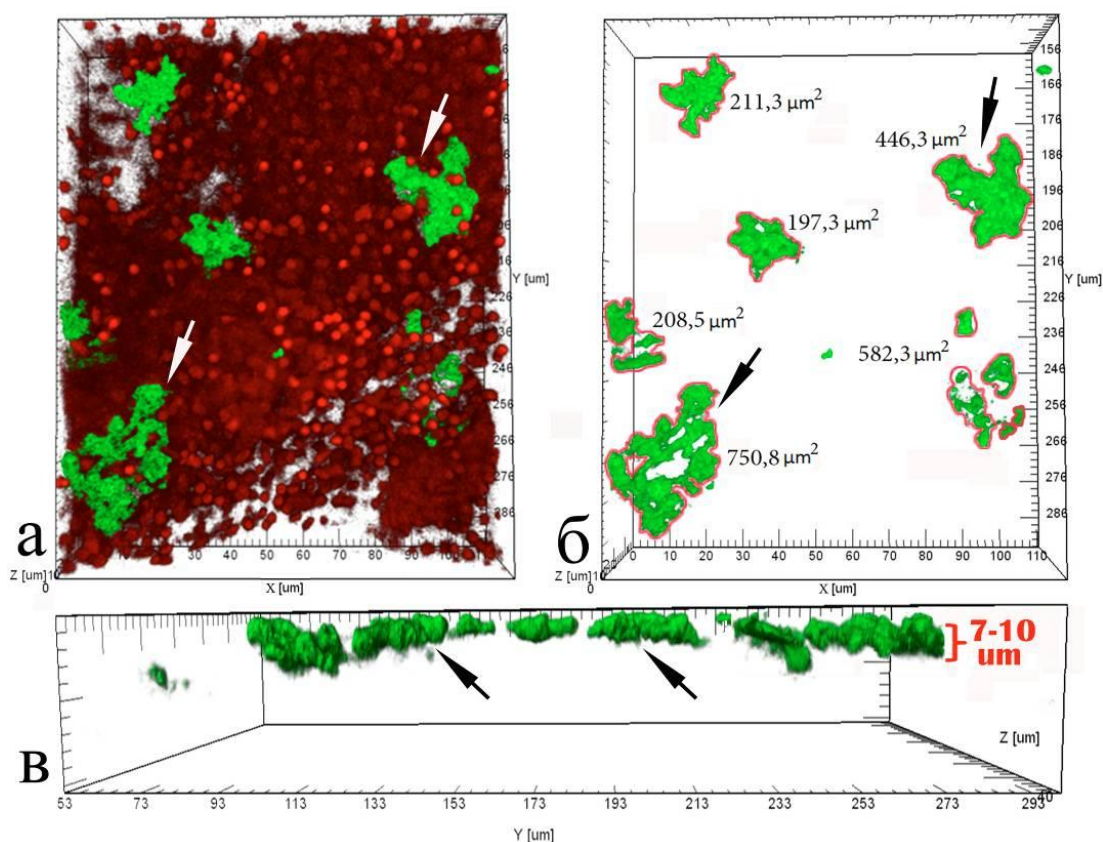


Рис. 6. Мозаичное распределение доменов (показаны стрелками), образованных молодыми клетками в поверхностном слое эпителия у *T. leeri* через 36 часов после инъекции BrdU. Избирательная окраска ядер клеток, включивших BrdU, с помощью антител, меченых FITC к BrdU (зеленый); неделящиеся ядра клеток окрашены 7 – аминоактиномицином D (красный); конфокальная микроскопия; 3D-реконструкции. А – участок складки обонятельной розетки; б – отдельные домены (фото "а" в зеленом канале) с обозначением их площади в мкм²; в – вид доменов в профиль.

клеток, которые также, как и в работах по функциональному картированию эпителия [Buck, 1996; Mori *et al.*, 2006 и др.], мы назвали клеточными доменами. Такие группы клеток сформированы в виде уплощенных слоев, состоящих преимущественно из одного ряда ядер молодых клеток. Чередуюсь со скоплениями клеток, не включивших BrdU, они формируют в наружном слое эпителия упорядоченный мозаичный рисунок. Полученные результаты могут быть важны в связи с обсуждаемым вопросом о возможности существования пространственного кода восприятия запахов, который может существовать на уровне сенсорного отдела обонятельной системы. У млекопитающих [Buck, 1996; Mori *et al.*, 2006; Sobel, 2011] и у рыб [Weth *et al.*, 1996; Bayramli *et al.*, 2017] обонятельный эпителий демонстрирует топографическую зональность в экспрессии молекулярных рецепторов к одорантам. Кроме того, известно, что аксоны рецепторных клеток из этих зон со сходной чувствительностью поступают в одну специализированную структуру – гломерулу обонятельной луковицы (ОЛ), где осуществляются начальные этапы идентификации химических сигналов [Buck, 1996; Mori *et al.*, 2006]. Эти данные говорят о том, что как в ОЛ, так и на уровне периферического отдела сенсорного аппарата, прослеживается определенная структурированность в обеспечении первичных процессов восприятия запахов. Наши исследования свидетельствуют о том, что в ходе нейрогенеза в эпителии рыб формируются пространственно разграниченные домены, которые состоят только из новообразованных клеток и могут участвовать в хеморецепции в качестве отдельных морфофункциональных единиц. Таким образом, предполагается, что функциональная синхронизация рецепторных клеток в составе доменов может достигаться не только одинаковой специфичностью экспрессируемых ими рецепторов, но и общностью их нейрогенеза, что может лежать в основе комбинаторного принципа [Buck, Axel, 1991] идентификации одорантов.

Структурные особенности молодых нейронов после установления контакта дендритов с поверхностью обонятельного эпителия

Установлено, что дочерние клетки, возникшие после деления стволовых клеток, по мере их роста и дифференцировки уже в средней части толщи эпителия приобретают выраженные признаки молодых развивающихся нейронов. У таких клеток хорошо выявляется дендрит, вдоль которого в примембранных участках формируется широкий (0,45 мкм) слой актиновых микрофиламентов. В приадресной зоне и в цитоплазме дендрита обнаруживаются хорошо выраженные функционально активные митохондрии. Конус роста не содержит актина, поскольку является важным отделом растущего дендрита, куда посредством везикул доставляется и встраивается новый мембранный материал. В процессе развития молодые клетки транспортируются в апикальные районы эпителия. Перед этим, у молодого нейрона ядро приобретает удлиненную форму и основная его масса проникает внутрь актинового «футляра» (рис. 7).

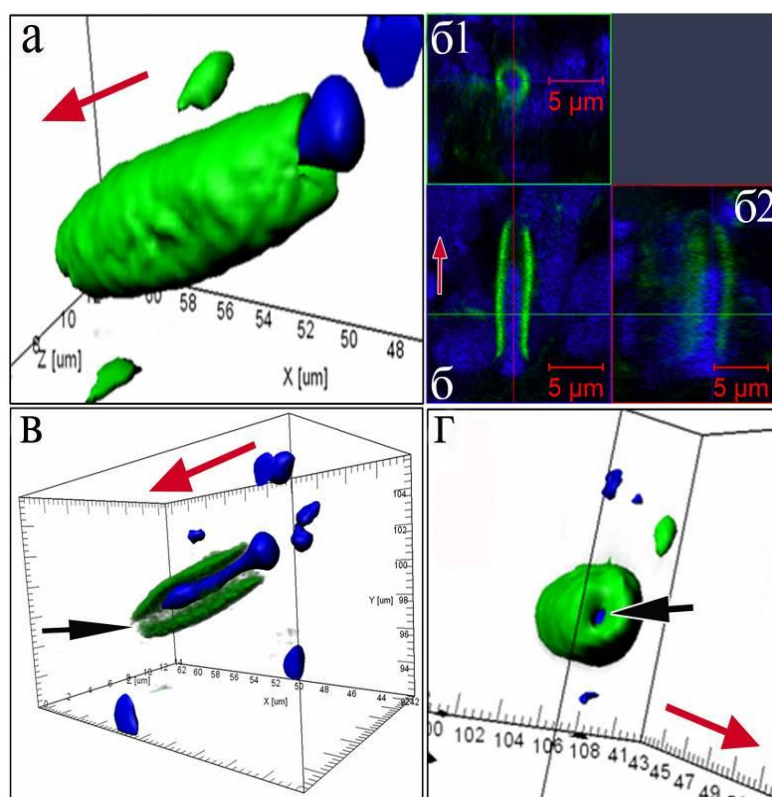


Рис. 7. Специфическая организация тела незрелого нейрона в процессе его миграции в эпителии у *C. inermis*. Окраска на F-актин (фаллоидин-FITC, зеленый) и ядра (DAPI, синий); конфокальная микроскопия. А – вытянутая форма дендрита с ядерным веществом внутри (3D-реконструкция); б – 2D-срез клетки и ее ортогональные проекции (б1, б2); в – продольный срез через дендрит; видно вытянутое ядро, локализованное в "чехле" из актиновых микрофиламентов (3D-реконструкция); г – апикальный участок дендрита (3D-реконструкция); конус роста отмечен черной стрелкой.

Таким образом, с помощью F-актина формируется мощный чехол, который придает мигрирующей клетке наиболее удобную форму и жесткость, необходимые для ее перемещения между телами соседних клеток, заполняющими внутреннее пространство многоядного обонятельного эпителия. По окончании позиционирования клетки передний участок дендрита контактирует с поверхностью эпителия, где он формирует плотные контакты с дистальными зонами соседних клеток. В эту фазу развития, как и вдоль дендрита, в примембранном слое его терминали формируется хорошо выраженный актиновый кортекс. Он сплошным широким (0,45 мкм) слоем закрывает все пространство под поверхностной мембраной за исключением поры, через которую цитоплазма может взаимодействовать с мембраной (рис. 8).

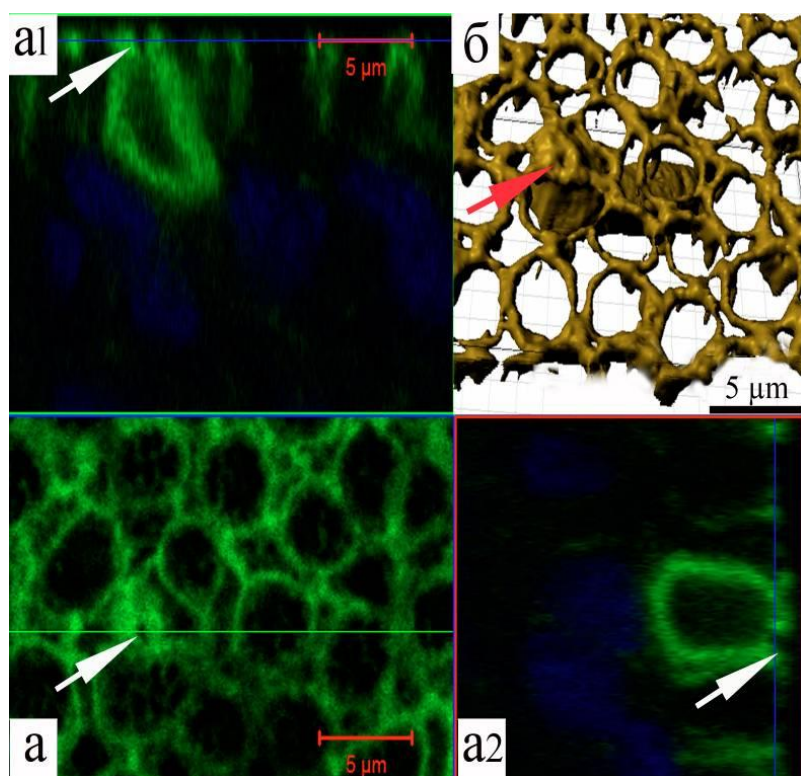


Рис. 8. Пора в актиновом кортексе терминали дендрита у молодого рецепторного нейрона в обонятельном эпителии у *C. inermis*. Профиль поверхности (a) и ортогональных проекций (a1, a2) поры показаны стрелками; б – 3D-реконструкция (режим "surface") клетки с порой, обращенной на поверхность эпителия.

Судя по диаметру (0,3–0,4 мкм), пора может обеспечивать функционирование только небольшого фрагмента поверхностной мембраны клетки, где могут быть сосредоточены рецепторные белки. Это говорит о том, что после установления контакта с внешней средой обонятельная клетка не сразу включается в сложные процессы хеморецепции водорастворимых одорантов. На

следующем этапе развития актиновые микрофиламенты в апикальном участке и вдоль дендрита исчезают и клетка становится морфологически зрелой.

Ранее у рыб в качестве гистохимического маркера незрелых клеток был выявлен только ассоциированный с их ростом фосфопротеин GAP-43 [Bettini *et al.*, 2006]. Наши исследования показывают, что в начальные этапы развития и миграции клеток вовлечены также элементы цитоскелета, в частности, актиновые микрофиламенты. Если учесть, что незрелые нейроны, находясь в ходе миграции в толще эпителия, способны реагировать только на гидрофобные одоранты [Lowe, Gold, 1991], то после установления контакта дендрита с внешней средой через пору впервые может происходить его взаимодействие с водорастворимыми молекулами. Ранее на млекопитающих показано, что в процессе развития у обонятельных клеток отбирается одна аллель из числа генов, кодирующих рецепторы для экспрессии, а функциональный рецептор обеспечивает обратную связь, которая предотвращает экспрессию других одорант-связывающих белков [Serizawa *et al.*, 2004; Dalton, Lomwardas, 2015]. В связи с полученными данными предполагается, что через пору может проходить первый внутриклеточный сигнал от водорастворимых одорантов внешней среды, в результате чего в клетке происходит стабилизация экспрессии выбранного обонятельного рецептора.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛУХОВОГО САККУЛЯРНОГО АППАРАТА У РОГАТКОВИДНЫХ (COTTOIDEI) И СИГОВЫХ РЫБ (COREGONIDAE) ОЗЕРА БАЙКАЛ

Ультраструктурные особенности сенсорных клеток саккулюса у рогатковидных рыб

Саккулярная макула располагается на медиальной стороне отолитового органа, имеет вытянутую форму и ориентирована в ростро-каудальном направлении. В состав макулы входят волосковые (рецепторные) клетки и поддерживающие микровиллярные эпителиоциты. Вершина клеток увенчана пучком из располагающихся правильными рядами 20–30 стереоцилий и ацентрично расположенной киноцилии (рис. 9). С помощью кластерного анализа

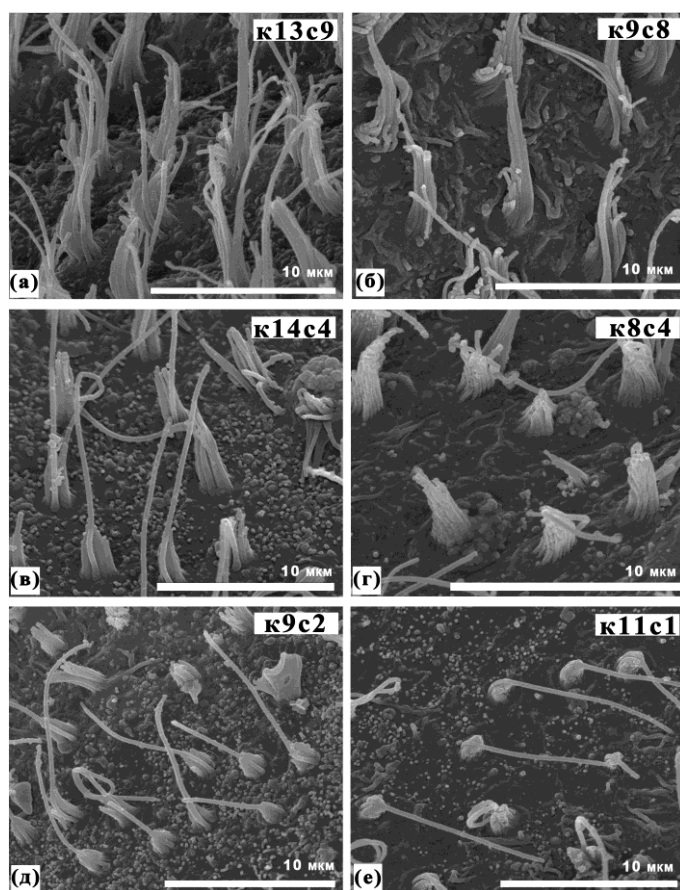


Рис. 9. Волосковые клетки с разной длиной стереоцилий и киноцилии в саккулярной макуле у *P. knerii*: (а) к13с9, (б) к9с8, (в) к14с4, (г) к8с4, (д) к9с2, (е) к11с1, где к – средняя длина киноцилии, мкм; с – средняя длина максимальной по высоте стереоцилии, мкм; сканирующая электронная микроскопия.

по наиболее варьирующим признакам (длина киноцилии (к) и длина наиболее высокой стереоцилии (с)) выделено шесть типов клеток: к13с9, к9с8, к14с4, к8с4, к9с2, к11с. Дана количественная оценка участков, занимаемых клетками разных типов. Для пелагических большой и малой голомянок характерны большие по площади районы (более 50 %), занимаемые сенсорными клетками с удлиненными стереоцилиями (8 мкм). Преобладание у голомянок волосковых клеток с длинными стереоцилиями согласуется с тем, что они обитают в зоне низкочастотных колебаний (300 Гц), соответствующих частотному профилю пелагиали озера [Карлик, Марапулец, 2004]. В отличие от этого, в макуле прибрежной каменной широколобки и у бентопелагической северобайкальской желтокрылки доминируют клетки, несущие более короткие стереоцилии (< 4 мкм) – 100% и 68% соответственно. Диапазон акустической чувствительности у каменной широколобки находится в пределах 300–700 Гц, а у северобайкальской желтокрылки – 300–500 Гц, что, согласуется с морфологическими данными о

преобладании в макуле данных видов рыб клеток с короткими стереоцилиями. К дополнительным адаптациям прибрежных видов рыб можно отнести также наличие в саккулярном аппарате аберрантных отолитов, большое морфологическое разнообразие типов сенсорных клеток и их высокую плотность. Для пелагических глубоководных видов рыб, в частности, большой голомянки, аберрантные отолиты нетипичны.

Дирекционная чувствительность саккулюса. Горизонтальная ориентация (или поляризация, отражающая вектор направления стереоцилий к киноцилии) сенсорных пучков предполагает их направленность по rostrocaudальной оси макулы и рыбы соответственно; вертикальная – по дорсовентральной оси. У пелагических большой (рис. 10, а) и малой (рис. 10, б) голомянок горизонтальная ориентация сенсорных пучков преобладает над вертикальной, что говорит о горизонтальной направленности их акустического восприятия.

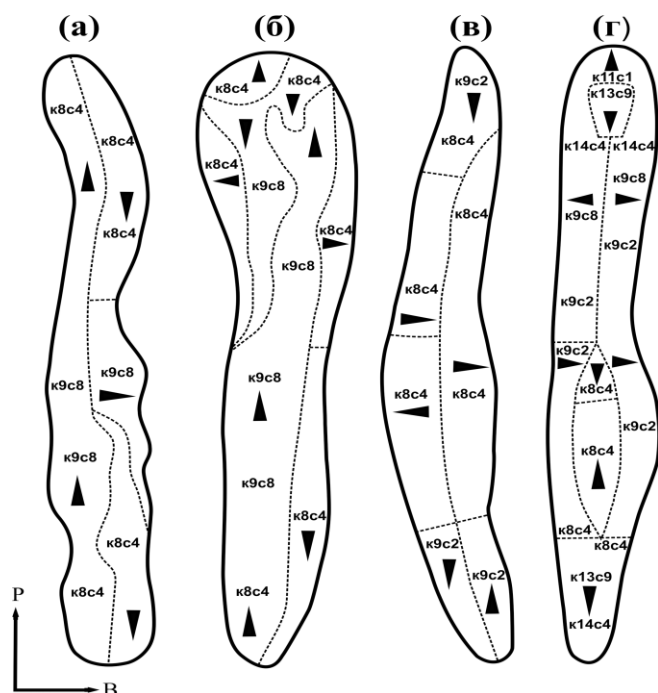


Рис. 10. Схемы распределения и морфологической поляризации волосковых клеток разного типа в саккулярной макуле у *C. baicalensis* (а), *C. dybowskii* (б), *Cottocomephorus alexandrae* (в) и *P. knerii* (г). Пунктирной линией обозначены зоны с разной морфологической поляризацией волосковых клеток; вектор поляризации указан стрелкой. Р — ростральная сторона макулы, В — вентральная сторона макулы.

У бентопелагической северобайкальской желтокрылки (рис. 10, в) и у прибрежного вида каменной широколобки (рис. 10, г) превалирует вертикальная ориентация сенсорных пучков клеток, что свидетельствует о доминировании вертикальной дирекционной чувствительности саккулюса, необходимой для восприятия звуковых колебаний вблизи грунта.

Ультраструктурные особенности сенсорных клеток саккулюса у сиговых рыб

У сиговых рыб макро- и ультраструктура макулы также является видоспецифичной. Площадь сенсорной макулы, плотность расположения клеток, их разновидности, а также длина механочувствительных элементов неодинаковы у сиговых рыб, обитающих в различных экологических условиях озера.

Для байкальского омуля (пелагический вид) характерны большие площади (около 44 %), занимаемые сенсорными клетками с удлинёнными стереоцилиями (4–5 мкм), что вероятно способствует наиболее адекватному восприятию низкочастотных акустических волн. В отличие от пелагических рыб, для мелководного баргузинского пыжьяна свойственно меньшее морфологическое разнообразие типов клеток. Кроме того, для клеток пыжьяна и озерного сига характерны клетки с короткими стереоцилиями (< 3 мкм), воспринимающими более высокочастотные сигналы, которые легче идентифицируются на фоне низкочастотного шума в мелководной зоне. Благодаря наличию у рыб плавательного пузыря, который является хорошим резонатором и способствует трансформации высокочастотных сигналов в легко воспринимаемые сенсорными клетками низкочастотные колебания [Popper et al., 2003; Popper, Fay, 2011], сиговые чувствительны к более высокочастотному спектру акустических сигналов, что показано в ходе поведенческих экспериментов. У байкальского омуля диапазон слухового восприятия находится в пределах 400–800 Гц, у пыжьяна – 600–800 Гц, у озерного сига – 600–1500 Гц.

Дирекционная чувствительности саккулюса. Омуль имеет достаточно сложное поведение, образует быстро мигрирующие стаи с активными горизонтальными и вертикальными перемещениями в пелагиали озера [Скрябин, 1969; Смирнов и др., 2009]. Его дирекционная чувствительность имеет значительные проекции как в вертикальной, так и в горизонтальной плоскостях. При сравнительной оценке морфологической поляризации сенсорных клеток у байкальского омуля пелагической морфоэкологической группы выявлено

доминирование горизонтальной ориентации механорецепторного аппарата клеток (рис. 11, а).

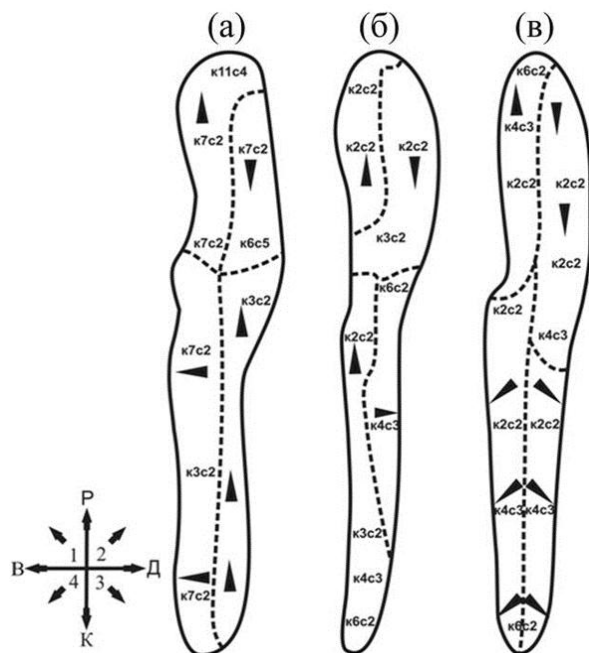


Рис. 11. Схемы распределения волосковых клеток разного типа и их поляризация в саккулярной макуле у *C. migratorius* (а), *C. baicalensis* (б) и *C. lavaretus pidschian* (в). Направления поляризации сенсорных клеток: в – вентральное, д – дорсальное, р – ростральное, к — каудальное, 1 – ростровентральное, 2 – ростродорсальное, 3 – каудодорсальное, 4 – каудовентральное.

Слуховая чувствительность у озерного сига значительно варьирует в горизонтальной плоскости, имея достаточно узкую проекцию в вертикальном направлении (рис. 11, б). В сравнении с омулем, озерный сиг ведет менее активный образ жизни и не связан с речными системами. Дирекционная чувствительность саккулюса озерно-речного пыжьяна хорошо выражена как в горизонтальном, так и в вертикальном направлениях, что обеспечивает его акустическую чувствительность в мелководной зоне в связи с обитанием преимущественно в речных системах (рис. 11, в).

Закладка и морфология саккулярных отолитов у байкальских рыб

Установлено, что клетки транзитного эпителия саккулюса производят органические и минеральные вещества, из которых далее формируются отоконии. После сборки в цитоплазме клеток отоконии транспортируются на поверхность эпителия, после чего присоединяются к растущему отолисту, либо остаются в составе эпителия и, возможно, могут выполнять самостоятельную функцию в преобразовании акустических сигналов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эволюции рыб структурно-функциональные свойства обонятельных клеток формировались при воздействии различных физико-химических факторов внешней среды, что позволило обеспечивать гидробионтам сложные формы их адаптивного поведения. При переходе рыб к нересту рецепторные клетки способны настраиваться на рецепцию биологически значимых веществ – половых феромонов; в процессе вертикальных миграций рыб в толще воды они приобрели устойчивость к действию переменных режимов гидростатических давлений; при длительном воздействии одорантов различной природы нейроны могут трансформироваться на режим дендритной нейросекреции, что ведет к ослаблению обонятельного восприятия. Такие приспособительные свойства клеток обеспечиваются сбалансированным уровнем происходящих в эпителии процессов нейрогенеза, уровень которого напрямую зависит от действия факторов внешней среды.

В слуховой саккулярной макуле у рогатковидных и сиговых видов рыб выявлены видоспецифичные морфотипы сенсорных клеток, различающиеся длиной стереоцилий и киноцилий. Характерно, что в эпителии у рыб из обеих групп, обитающих в мелководной зоне, типичными являются сенсорные клетки с преимущественно короткими стереоцилиями, воспринимающими более высокочастотные звуковые колебания. В отличие от этого, для пелагических видов сиговых рыб и голомянок свойственны большие по площади макулы, занимаемые волосковыми клетками с удлинёнными стереоцилиями, что способствует восприятию низкочастотных акустических волн, свойственных для глубоководной зоны Байкала. Таким образом, сравнительно-морфологические исследования показывают, что рыбы из разных таксономических групп, обитающие в сходных гидродинамических условиях, имеют аналогичные морфологические параметры устройства рецептивного участка волосковых клеток. Полученные данные могут быть важны для дальнейшего изучения

фундаментальных механизмов функционирования обонятельной и слуховой систем животных и их межсенсорных взаимодействий.

ВЫВОДЫ:

1. В смене фаз сложного репродуктивного поведения рыб важную роль играют адаптивные перестройки периферического отдела обонятельного анализатора.
2. Обонятельный эпителий пелагических рыб имеет существенно большую, чем у бентосных, структурно-функциональную устойчивость к воздействию гипобарической гипоксии, что, вероятно, является результатом их адаптации к сезонным и суточным вертикальным миграциям в процессе пищевого поведения.
3. Цитоскелет в дендритах рецепторных клеток формируется не только при значительных функциональных нагрузках в период нереста, но и при низкой концентрации одорантов во внешней среде. При сенсорной депривации система микротрубочек является важным компонентом, обеспечивающем структурно-функциональную целостность рецепторных клеток.
4. Длительная одорантная стимуляция рыб нетоксичными веществами вызывает избирательную дифференцировку и программированную гибель отдельных клеток обонятельного эпителия, что приводит к компенсаторному усилению процессов нейрогенеза.
5. Обонятельные нейроны могут трансформироваться в клетки с дендритной нейросекрецией, что свидетельствует об их способности к переключению на другой тип функциональной специализации.
6. В ходе конститутивного нейрогенеза новообразованные клетки мигрируют к апикальной поверхности обонятельного эпителия, где они формируют пространственно разграниченные домены, которые, возможно, могут функционировать в качестве морфофункциональных единиц.
7. В процессе дифференцировки и миграции молодого обонятельного нейрона значительная доля его ядерного материала проникает внутрь дендрита с хорошо

выраженным примембранным слоем актиновых микрофиламентов, благодаря чему клетка принимает наиболее удобную форму для миграции в межклеточном пространстве.

8. После установления контакта обонятельной клетки с внешней средой, в примембранном слое F-актина терминали дендрита формируется пора, через которую от одорант-связывающих рецепторов может проходить первый внутриклеточный сигнал, необходимый для стабилизации экспрессии обонятельных рецепторов.

9. У байкальских бентических и бентопелагических рыб слуховой саккулярный эпителий представлен сенсорными клетками с вертикальной поляризацией и преимущественно короткими стереоцилиями, воспринимающими высокочастотные звуковые колебания, связанные со дном. В отличие от этого, для пелагических голомянок и сиговых видов рыб свойственны волосковые клетки с горизонтальной поляризацией и удлинёнными стереоцилиями, что способствует наиболее адекватному восприятию низкочастотных акустических сигналов в толще воды.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК и в зарубежных изданиях:

1. Klimenkov I.V., Sudakov N.P., Pastukhov M.V., Svinov M.M., Kositsyn N.S. (2018). Rearrangement of actin microfilaments in the development of olfactory receptor cells in fish. *Scientific reports*. V. 8, N. 3692. P. 1–12.
2. Sapozhnikova Y.P., Belous A.A., Makarov M.M., Glyzina O.Yu., Klimenkov I.V., Yakhnenko V.M., Sukhanova L.V. (2017). Ultrastructural correlates of acoustic sensitivity in Baikal coregonid fishes. *Fundamental and Applied Limnology*. V. 189(3), P. 267–278.
3. Судаков Н.П., Клименков И.В., Бывальцев В.А., Никифоров С.Б., Константинов Ю.М. (2017). Внеклеточный актин в норме и при патологии. *Биохимия*, Т. 82, вып. 1, С. 5–18.
4. Klimenkov I.V., Sudakov N.P., Pastukhov M.V., Kositsyn, N.S. (2016). Cytochemical features of olfactory receptor cells in benthic and pelagic sculpins

- (Cottoidei) from Lake Baikal. Archives of Biological Sciences. V. 68(2), P. 345–353.
5. Klimenkov I.V. (2016). From Olfaction in Fish to Regenerative Medicine. Science First Hand. 44(2).
 6. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Ханаев И.В., Макаров М.М., Белоус А.А. (2016). Ультраструктура сенсорных клеток саккулярного эпителия у четырех видов рогатковидных рыб (COTTOIDEI) озера Байкал в связи с их образом жизни. Вопросы ихтиологии. V. 56(2), P. 208–216.
 7. Klimenkov I. V., Kurylev A.V., Kositsyn N.S., Sudakov N.P., M.V. Pastukhov, Nikiforov S.B., Belykh E.G., Byvaltsev V.A. (2015). Olfactory Receptor Cells' Dendritic Neurosecretion Phenomenon. World neurosurgery. V. 83(3), P. 278–279.
 8. Клименков И.В., Судаков Н.П., Пастухов М.В. (2014). Обонятельный эпителий как источник аутологических стволовых, прогениторных и других малодифференцированных нейральных клеток. Известия ИГУ. Серия "Биология. Экология". Т.8. С. 80–84.
 9. Клименков И.В., Пастухов М.В., Судаков Н.П., Шишлянников С.М., Косицын Н.С. (2013). Адаптивные ультраструктурные особенности обонятельных рецепторных клеток у глубоководных рыб озера Байкал. Сенсорные системы. Т. 27(4), С. 350–363.
 10. Клименков И.В., Косицын Н.С., Свинов М.М. (2011). Общие признаки стимулзависимой дифференцировки обонятельных рецепторных нейронов и В-лимфоцитов иммунной системы. ДАН. Т. 436(2), С. 273–275.
 11. Клименков И.В., Натяганова А.В., Курылев А.В., Пастухов М.В., Судаков Н.П., Косицын Н.С. (2011). Дегенеративные изменения и нейрогенез в обонятельном эпителии рыб после длительной хемотимуляции. Известия ИГУ. Серия "Биология. Экология". Т. 4(3), С. 119–125.
 12. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Ханаев И.В. (2010). Особенности формирования отолитов у некоторых рогатковидных рыб разных экологических групп озера Байкал. Сенсорные системы. Т. 24(1), С. 73–86.
 13. Судаков Н.П., Бывальцев В.А., Никифоров С.Б., Сорокинов В.А., Клименков И.В., Константинов Ю.М. (2010). Дисфункция митохондрий при нейродегенеративных заболеваниях. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Т. 110(9), 87–91.
 14. Яхненко В.М., Клименков И.В. (2009). Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и побережья озера Байкал. Известия РАН. Серия биологическая. Т. 1, С. 46–54.
 15. Клименков И. В., Косицын Н.С. (2008). Морфологические перестройки обонятельных рецепторных нейронов у рыб после их периодической стимуляции сахарозой. Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология». Т. 1(2), С. 33–36.
 16. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Ермакова А.О., Шидловский Л.М., Гершенский П.Г., Томас А.Р. (2008). Исследование сенсорной слуховой

- системы байкальских рогатковидных рыб (Cottoidei) методами электронной микроскопии. Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология». Т. 1(2), С. 37–40.
17. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Мельник Н.Г. (2007). Особенности морфологической поляризации сенсорных элементов слухового саккулярного эпителия у Байкальских рогатковидных рыб (Cottoidei). Сенсорные системы. Т. 21(2), С. 140–146.
 18. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Ханаев И.В. (2003). Особенности макро- и ультраструктур сенсорного слухового аппарата Cottoidei озера Байкал. Бюл. ВСНЦ СО РАМН. Т. 7. С. 138–140.
 19. Косицын Н.С., Клименков И.В., Курылев А.В. (1996). Ультраструктурные корреляты разных уровней чувствительности обонятельных хеморецепторных клеток. Морфология. Т. 110(4), С. 60–63.
 20. Косицын Н.С., Клименков И.В. (1994). Трансформация элементов цитоскелета рецепторных клеток обонятельного анализатора у рыб на разных этапах жизненного цикла. ДАН. Т. 336(2), С. 261–263.
 21. Косицын Н.С., Клименков И.В., Дмитриева Т.М. (1990). Ультраструктурные перестройки рецепторных клеток обонятельного анализатора рыб в разные фазы репродуктивного поведения. ДАН. Т. 113(3), С. 739–741.

КЛИМЕНКОВ Игорь Викторович

АДАПТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ В СИСТЕМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ОТДЕЛА
ОБОНЯТЕЛЬНОГО И СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРОВ У РЫБ

Автореф. дис. на соискание ученой степени доктора биологических наук

Подписано к _____ и 20.03.2019 г.
Формат 60×84/16. Объем 2,1 п.л. Тираж 150 экз. Заказ № 858.
Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН.
664033 г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 1.