

Отзыв

на автореферат диссертационного исследования
Клименкова Игоря Викторовича «АДАПТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ В
СИСТЕМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ОТДЕЛА ОБОНЯТЕЛЬНОГО И
СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРОВ У РЫБ», представленного к защите на
соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и
03.03.01 - физиология

В диссертационной работе Клименков И.В. рассматривает механизмы, лежащие в основе адаптации рыб к изменяющимся условиям окружающей среды. Важной особенностью его работы является исследование этих процессов на уровне периферического отдела обонятельного анализатора. Ольфакторные рецепторы, локализованные в обонятельном эпителии, являются единственными нейронами ЦНС, непосредственно подверженными воздействию окружающей среды, и они также уникальны тем, что они являются единственными нейронами, которые, как известно, регенерируют, с полной заменой рецепторов у млекопитающих примерно каждые 28 дней. Это имеет очевидное биологическое значение, учитывая непосредственное воздействие окружающей среды на обонятельные нервные клетки. Исследования на обонятельном эпителии позволяют изучать молекулярные и клеточные механизмы обонятельного восприятия, а также изменения в маркерах, указывающих на аномалии в развитии и дифференцировки нейронов, возникающих под действием различных факторов у различных животных, включая рыб.

Актуальной задачей, которая решалась в диссертационной работе Клименкова И.В., являлось изучение адаптивных свойств рецепторных клеток и процессов формирования адаптивного поведения рыб при действии гидростатических давлений, при которых рыбы испытывают сочетанное воздействие высокого давления и низкого напряжения кислорода в воде на глубинах.

Нарушения, вызываемые в нейронах мозга млекопитающих при ишемии, представляют собой область основного интереса нейронаук. Нейроны обычно рассматривают как наиболее чувствительные к аноксии клетки. Однако последние

работы ясно показали, что даже самые уязвимые нейроны не являются беззащитными и самые толерантные показывают впечатляющую способность жить без O₂ в течение длительного периода. Нейроны в широком диапазоне варьируют свою способность адаптироваться к ограниченной поставке O₂ к мозгу, отражая многообразие функций нейронов и степень обычно испытываемой гипоксии. Нейроны толерантных к гипоксии позвоночных являются уникальной моделью для идентификации новых стратегий для повышения выживаемости нейронов, уязвимых к действию гипоксии.

Исследование физиологических процессов, которые угнетаются при длительном и остром метаболическом подавлении в нейронах, устойчивых к гипоксии, будет иметь большое значение при разработке новых стратегий нейропротекции. Обонятельные рецепторные клетки, имеющие центральное происхождение, являются адекватной моделью для изучения адаптации нейронов к действию гипоксии. Поэтому изучение обонятельной системы у гидробионтов с экстремальными по глубине условиями существования является актуальным, поскольку может способствовать выявлению клеточных и молекулярных механизмов, обеспечивающих их устойчивость к гипоксии.

Существенные отличия образа жизни у различных представителей байкальской ихтиофауны, использованные автором в диссертационной работе, послужили естественной моделью для выявления морфо-функциональных адаптаций обонятельного и слухового анализаторов у рыб, эволюционно приспособленных к жизнедеятельности в разных экологических условиях.

Поэтому актуальность темы диссертационной работы Клименкова Игоря Викторовича несомненна.

Она определила цель диссертационной работы и задачи исследования. Экспериментальное и теоретическое обоснование основных механизмов цитохимических перестроек в сенсорных отделах у рыб, связанных с их экологией, поведением и спецификой сенсорной нагрузки, потребовали от исполнителя достаточно высокой профессиональной квалификации.

В связи с этим необходимо отметить высокий методический уровень исследований, проведенных И.В. Клименковым. Для решения поставленных задач автором был использован набор самых современных методов, включающих просвечивающую и сканирующую электронную микроскопию, лазерную конфокальную микроскопию, тест на функционально-активные митохондрии в клетках обонятельного эпителия, 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; оценку пролиферативной активности производили с помощью бромдезоксипуридина (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, также методов обработки полученных данных.

Такой подход позволил И.В. Клименкову получить новые достоверные данные, решить важную научную проблему и дать экспериментально-теоретическое обоснование, позволяющее утверждать, что приспособительные свойства клеток обеспечиваются сбалансированным уровнем происходящих в эпителии процессов нейрогенеза, уровень которого напрямую зависит от действия факторов внешней среды.

Следует отметить один из интересных результатов, полученных в работе Игоря Викторовича Клименкова, касающийся роли цитоскелета, в частности, актиновых микрофиламентов, в обонятельных клетках рыб. В наших исследованиях на обонятельном эпителии лягушек *Rana temporaria* было показано, что одоранты в дистальных отделах обонятельных жгутиков инициируют реорганизацию актинового цитоскелета, сопровождающуюся образованием актиновых нитей в их примембранном слое. В результате этого неупорядоченные хлыстообразные движения обонятельных жгутиков становятся упорядоченными, позволяя им совершать хемотаксис в градиенте концентрации

одоранта, что является одним из механизмов повышения обонятельной чувствительности.

В своем исследовании Клименкову И.В. удалось показать другую роль актиновых микрофиламентов, связанную с начальными этапами развития и миграции клеток. Согласно его данным, F-актин образует пору, через которую может проходить первый внутриклеточный сигнал от водорастворимых одорантов внешней среды, в результате чего в клетке происходит стабилизация экспрессии выбранного обонятельного рецептора. Такое заключение полезно было бы проверить экспериментально. Тем более, что актиновый цитоскелет в обонятельных клетках может входить в состав цилиарных обонятельных мультимерных сигнальных комплексов, пространственно организующих компоненты механизма обонятельной трансдукции. Полагают, что этот ассоциированный с мембраной "transducisome" комплекс может вносить значительный вклад в быструю кинетику первичных реакций при обонятельной сигнализации.

Следует отметить, что диссертационная работа, выполненная И.В. Клименковым, имеет не только теоретическое, но и важное практическое значение. 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.

Выводы диссертации соответствуют поставленной цели и положениям, выносимым на защиту.

