

## **ОТЗЫВ** **официального оппонента**

на диссертацию **Клименкова Игоря Викторовича**  
на тему «**Адаптивные особенности в системе периферического отдела  
обонятельного и слухового анализаторов у рыб**»  
на соискание учёной степени доктора биологических наук  
по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и  
03.03.01 - физиология.

### **Актуальность темы**

Изучение фундаментальных механизмов адаптивного функционирования обонятельного (ольфакторного) анализатора животных в связи с его особой ролью при формировании пищевого, репродуктивного и других сложных форм их поведения является одной из важнейших задач биологии. В первую очередь, эти вопросы касаются расшифровки механизмов, которые обеспечивают процессы хеморецепции на уровне периферического отдела обонятельной системы. До сих пор не выявлены четкие корреляции между структурой рецепторных нейронов, их чувствительностью и реализацией конкретных форм поведения животных. В связи с этим, одной из актуальных проблем является поиск морфо-функциональных критериев разных уровней чувствительности рецепторных нейронов у животных на ключевых этапах их жизненного цикла, сопровождающихся существенно изменяющимся спектром воспринимаемых биологически значимых веществ. Остается недостаточно изученным нейрогенез ольфакторного эпителия в норме и после продолжительного воздействия на животных физико-химических факторов различной природы. Среди наиболее принципиальных аспектов изучения нейрогенеза важное место занимают вопросы о ранних стадиях развития рецепторных клеток, путях их миграции и позиционирования на завершающих стадиях дифференцировки. Данные о топографическом расположении новообразованных клеточных элементов в эпителии напрямую связаны с дискуссией о возможности пространственного кодирования восприятия запахов на уровне сенсорного отдела обонятельного анализатора у млекопитающих. Большой интерес представляет также выявление приспособительных свойств хеморецепторных нейронов не только при разном химизме окружающей среды, но и в условиях действия широкого спектра гидростатических давлений. Особенно это касается процессов формирования адаптивного поведения у гидробионтов, которые в ходе эволюции освоили

различные водные экологические ниши. Работы, посвященные этим проблемам, как правило, не охватывают глубоководных рыб в связи с ограниченностью их доступа, или затрагивают только общие анатомические сведения. Изучение обонятельной системы животных с экстремальными по глубине условиями существования может способствовать выявлению цитологических и молекулярных механизмов, позволяющих им приобретать устойчивость к гипоксии, что обеспечивает гидробионтам сохранность хемосенсорного поведения при переменных режимах гидростатических давлений. Эксперименты на млекопитающих выявили интеграцию органов чувств в восприятии химических сигналов, в частности обонятельной и слуховой систем, что позволяет животным более полно анализировать доступную информацию о внешней среде. Возможно, что такая интеграция может реализовываться и у рыб, которые, как известно, широко используют обонятельные и акустические сигналы для обеспечения различных форм поведения. Особенности структурно-функционального устройства органа слуха у рыб мало изучены. Это связано с большим разнообразием морфологической организации слухового аппарата у рыб, что отражается на более сложном характере пространственного кодирования первичного восприятия звуков. Слабо изученными являются механизмы закладки и дальнейшего формирования отолитов, а также ультраструктурная специфика и пространственная локализация чувствительных клеток в составе сенсорной макулы у рыб, адаптированных к разному образу жизни и экологии.

Использование представителей разных видов байкальских рыб для изучения адаптивных особенностей в системе периферического отдела обонятельной и акустической систем, обитающих в чистой воде Байкала создает возможность рассматривать это озеро в качестве одного из уникальных природных полигонов для получения данных базового уровня, что невозможно при изучении сенсорных систем гидробионтов из других, как правило, более загрязненных водоемов. Таким образом, существенные отличия образа жизни у различных видов байкальских рыб можно использовать в качестве естественной модели для выявления морфо-функциональных адаптаций обонятельного и слухового анализаторов у гидробионтов, эволюционно приспособленных к жизнедеятельности в разных экологических условиях.

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений, так как решению ряда перечисленных вопросов в отношении морфо-функциональных особенностей периферических отделов анализаторов рыб при адаптации их к

различным условиям существования посвящена диссертационная работа Клименкова Игоря Викторовича.

### **Степень обоснованности научных положений, заключения и рекомендаций**

Научные положения, заключение и практические предложения логически вытекают из результатов проведенных исследований, объективны и обоснованы. Достоверность научных положений подтверждается большим объемом научных исследований. Исследования выполнены методически грамотно с использованием большого арсенала морфологических методов. Автором изучены и проанализированы известные достижения и теоретические положения других российских и иностранных исследователей по вопросам, связанным с изучением особенностей морфологии и функций периферических отделов органов обоняния и слуха животных, в том числе и рыб, обусловленных разной экологической специализацией и сменой поведенческих реакций в разных периодах онтогенеза.

Для анализа полученных материалов автором используются разнообразные методы статистической обработки, позволяющие выявить закономерность в клеточных изменениях периферических отделов анализаторов.

### **Оценка новизны и достоверности**

Анализ изложенного в диссертации материала показывает, что высказанные автором научные и практические суждения по решению рассматриваемых вопросов достаточно аргументированы и вытекают из объема фактического и экспериментального материала, полученного с использованием современных методов исследований, адекватны целям и задачам работы.

На основании объективного анализа экспериментального материала сделаны логически вытекающие выводы, имеющие теоретическое и практическое значение. Экспериментальный материал обработан статистически и не вызывает сомнения в его достоверности.

В качестве новых основных научных результатов, полученных диссертантом, можно отметить следующее:

1. 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.

2. 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.

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

4. 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.

5. 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.

6. Установлено, что в ходе нейрогенеза в обонятельном эпителии рыб формируются пространственно разграниченные домены из молодых клеток. Поскольку новообразованные группы клеток возникают в одном интервале времени и локализуются в эпителии в виде компактных зон, предполагается, что они могут участвовать в рецепции одорантов в качестве отдельных морфо-функциональных единиц.

7. Показано, что актиновые микрофиламенты выполняют важную роль как на ранних, так и на завершающих этапах структурной дифференцировки рецепторных клеток.

8. Впервые на взятых из естественной среды оз. Байкал представителях ихтиофауны показано, что саккулярные макулы у рыб из разных семейств, 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 обонятельном эпителии позволяет *in vivo* формировать обогащенный пул малодифференцированных нейтральных 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.

Достоверность теоретических и практических результатов диссертации подтверждена 23 научными работами, 21 из которых опубликованна в изданиях ведущих научных журналов, рекомендованных ВАК РФ.

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на большом числе научных съездов, различных конференциях и симпозиумах и получили одобрение ведущих специалистов.

### **Содержание и оформление диссертации**

Диссертационная работа изложена на 373 страницах компьютерного текста, содержит 123 рисунка и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы, который содержит 548 источников, в том числе 464 иностранных. Иллюстрационный материал диссертации представлен 123 рисунком, включая 31 схему, 4 таблицы.

В разделе *обзор литературы* на 42 страницах изложены современные данные о структурно-функциональных особенностях обонятельного эпителия у позвоночных и слухового саккулярного аппарата у рыб. Проведён анализ вопросов, касающихся цитологических аспектов функционирования хеморецепторных клеток у животных на разных этапах их жизненного цикла, когда у них значительно возрастает мотивация в восприятии биологически значимых соединений, в частности, феромонов. Выявлено, что сведения по адаптивным перестройкам обонятельных клеток у рыб в связи с их подготовкой к репродуктивному поведению, не позволяют достоверно охарактеризовать морфологические критерии разных уровней чувствительности рецепторных клеток. Недостаточно изученными являются вопросы об адаптации периферического отдела обонятельной системы гидробионтов к действию других физико-химических факторов внешней среды и отсутствуют данные о динамике процессов нейрогенеза на уровне целостного обонятельного эпителия. Из анализа современной литературы следует, что восприятие химических сигналов в естественной среде, как правило, сопряжено с функционированием других сенсорных систем, в частности, со слуховым аппаратом, что позволяет

животным формировать более целостное представление о физико-химических параметрах внешней среды. Завершает главу заключение, которое обобщает имеющиеся в литературе по этим вопросам данные и подчеркивает обоснованность и актуальность поставленных перед диссертантом задач.

Для решения поставленных задач требовался комплексный подход, основанный на применении широкого спектра современных морфологических методов: световой, электронной и конфокальной микроскопии, атомно-силовой микроскопии; физиологические методы оценки поведенческих реакций. Все используемые методы, а также материалы, подробно описаны в главе 2 — **материалы и методы**.

Обращает на себя внимание четкое описание экспериментальных животных, включая происхождение каждой линии и место получения. Приведена таблица с кратким описанием использованных в работе видов рыб. Однако, вызывает недоумение содержащиеся в главе подробное описание поведенческих реакций рыб, больше соответствующее главе литературного обзора. При этом достаточно кратко описывается пробоподготовка электронно-микроскопического материала.

Главы 3-8 посвящены описанию **результатов и их обсуждению**, каждая из которых содержит самостоятельное заключение. В работе получен богатый экспериментальный материал, который хорошо задокументирован, четко представлен и обсужден. Представленные фотографии высокого качества.

Глава 3 посвящена изучению ультраструктурных особенностей обонятельного эпителия у желтокрылки в межнерестовый период. В этой части работы диссертанту удалось показать, что важным параметром, характеризующим особенности организации периферического отдела обонятельного анализатора животных в связи с их поведением и экологией является соотношение чувствительных и обкладочных клеток, специфика их взаимного расположения. Наиболее значимым результатом исследований, изложенных в данной главе, является выявление специфических особенностей тонкого устройства сенсорного отдела обонятельной системы при изучении окрашенных на F-актин препаратов методом конфокальной микроскопии. Этот методический подход позволил получить новые сведения о ранних этапах развития и дифференцировки рецепторных клеток у рыбы в дальнейшем может быть использован при изучении приспособительных особенностей обонятельного аппарата у рыб и других животных в связи с их биологией и поведением. Решение вопросов о специфике клеточных взаимодействий в перспективе позволит адекватно подойти к выбору методов увеличения

проницаемости обонятельного эпителия при интраназальном введении лекарственных средств, направленных на лечение различных неврологических расстройств.

*В главе представлены фотографии высокого качества, однако есть неудачно подобранные иллюстрации, характеризующие уровень синтетической активности клетки. Так, при сравнении рис. 17 и 18 состояние секреторного аппарата и в том, и в другом случае сходно.*

Глава 4 посвящена изучению цитохимических особенностей обонятельного эпителия у желтокрылки в нерестовый период. Описаны перестройки цитоплазматического микротубулярного аппарата в нерестовый период, связанные с первичными процессами трансформации хемокоммуникативных сигналов и повышению специфической чувствительности к феромонам у нерестящихся рыб и снижением чувствительности во время охраны икры. Показано, что изменение чувствительности рецепторных клеток связано, прежде всего, с цитоплазматическими перестройками области дендритов и, как следствие этого, функциональной переориентацией клетки.

Глава 5 посвящена изучению стимул-зависимой дифференцировки и нейрогенезу в обонятельном эпителии у рыб. Автором проведена большая работа по выявлению механизмов, запускающих преобразование клеток и о вовлечении в эти процессы других типов клеток эпителия и решению вопроса об универсальности данного физиологического явления в рамках функционирования сенсорного аппарата у животных, принадлежащих разным систематическим группам. Основываясь на результатах микроскопических исследований морфологических изменений у разных видов рыб, автором сделано заключение, что после пролонгированного воздействия нетоксичными одорантами вслед за гибелью рецепторных клеток путем апоптоза происходит активация нейрогенеза в ольфакторном эпителии гидробионтов. При этом ключевая роль в процессе дифференцировки нейрона принадлежит дендриту, перестройки в котором обеспечивают рост и жизнедеятельность растущей клетки и установлению посредством образующейся микропоры связи клетки с внешней средой. Дальнейшее развитие этого вопроса, по мнению автора, будет способствовать созданию технологий активации нейрогенеза в обонятельном эпителии и лечения нейродегенеративных заболеваний.

В главе 6 описываются результаты исследований по влиянию фенола на ольфакторный эпителий рогатковидных рыб семейства Cottidae. В качестве адекватного критерия оценки степени токсичности антропогенных токсикантов

предложено использовать оценку степени морфо-функциональных повреждений хемосенсорного аппарата животных. Продемонстрировано, что рассматриваемый подход может быть использован не только для оценки влияния ксенобиотиков на отдельные виды гидробионтов, но и для прогнозирования влияния загрязнителей антропогенного происхождения на природные экосистемы в целом.

*Глава 7* посвящена исследованию вопросов адаптивных особенностей обонятельного аппарата у глубоководных рыб озера Байкал. Интерес к этой проблеме обусловлен необходимостью исследования механизмов формирования адаптивного поведения гидробионтов в условиях действия на них широкого спектра гидростатических давлений. Исходя из полученных результатов морфологического исследования периферического отдела обонятельного анализатора мигрирующих в толще Байкала и глубоководных рыб автором продемонстрированы убедительные доказательства имеющихся цитологических и молекулярно-биологических механизмов, обеспечивающих глубоководным гидробионтам устойчивость к гипоксии, что обеспечивает сохранность хемосенсорного поведения при переменных режимах гидростатических давлений. Показано, что хорошая сохранность митохондрий в чувствительных клетках обитающих в широком диапазоне гидростатических давлений рыб может быть обусловлена протективным эффектом гипоксического прекондиционирования. Выявленное накопление липофусцина на фоне морфологически сохранных митохондрий является следствием высокой интенсивности одновременно протекающих в клетках процессов митофагии и биогенеза митохондрий. Эксперименты с длительным содержанием рыб в условиях высокого гидростатического давления показали, что хорошо организованная система продольных и поперечных элементов цитоскелета в дендритах обонятельных клеток глубоководных рыб является необходимым фактором поддержания их структурной целостности при низком содержании в воде обонятельных стимулов.

*В главе 8* описана морфологическая организация саккулюса у рогатковидных рыб. В данной главе приводятся подробное описание ультраструктуры сенсорных клеток и особенности их топографического расположения в саккуляторном эпителии. Показана видоспецифичность анатомического и ультраструктурного строения макул, что, по мнению автора, может быть связано с акустическими различиями в условиях обитания рыб и соотношением низко- и высокочастотных звуковых колебаний. Выявлено, что вариабельность формы отолитов байкальских рогатковидных рыб -



продолговатой у прибрежных видов и объемной грибовидной формы у пелагических голомянок - имеет приспособительное значение и обусловлена необходимостью настройки отолитовых органов на распознавание различных направлений звука. Показано, что отолиты имеют строго определенную архитектуру и ориентацию в саккулярной макуле, также имеющей специфические особенности пространственной поляризации сенсорных пучков волосковых клеток.

В диссертации имеется общее *заключение*, в котором суммированы многочисленные результаты проведенного исследования и определено их место в изучении адаптивных особенностей в системе периферического отдела обонятельного и слухового анализаторов у рыб. *Выводы* диссертации в полной мере отражают ее содержание. Обоснованность и достоверность заключений и выводов, сделанных автором не вызывает никаких сомнений.

Необходимо отметить, что изложение материала диссертации логично, автор четко и понятно доносит свои мысли до читателя, работа написана хорошим академичным языком. Автореферат оформлен по всем правилам, в нем отражены основные положения диссертационной работы, полно представлен и хорошо проиллюстрирован богатый экспериментальный материал. Название диссертации полностью отражает комплекс проведенных исследований. Работа выполнена на высоком методическом уровне, а полученные результаты являются крупным достижением в той области биологии, которая посвящена исследованию адаптивных особенностей в системе периферического отдела обонятельного и слухового анализаторов у рыб.

**При знакомстве с диссертационной работой не возникло каких-либо вопросов и замечаний, относящихся к ее оформлению, изложению и анализу полученных научных результатов.**

### **Заключение**

Диссертационная работа Клименкова Игоря Викторовича «Адаптивные особенности в системе периферического отдела обонятельного и слухового анализаторов у рыб», представленная на соискание степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология и 03.03.01 – физиология, является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствующей критериям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям

на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Клименков Игорь Викторович, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология и 03.03.01 – физиология

Официальный оппонент:

д.б.н. профессор,

профессор кафедры физиологии Новосибирского

государственного университета



Шестопалова Лидия Владимировна

22.09.2019

Данные об авторе отзыва:

Шестопалова Лидия Владимировна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры физиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2  
Тел.+7 (383) 363-40-21, E-mail: lidia\_v@list.ru

