

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

**И.В. Клименков
(Лимнологический институт СО РАН, Иркутск)**

Цель работы:

Изучить адаптивные особенности в системе периферического отдела 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 хеморецепторных 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 ольфакторного 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 сакулярных 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.

Виды рыб, используемые в работе:

Пелагические:

большая (*C. baicalensis*), малая (*C. dybowskii*) голомянка, длиннокрылая (*C. inermis*) широколобки, северобайкальская желтокрылка (*C. alexandrae*), желтокрылка (*C. grewingkii*).

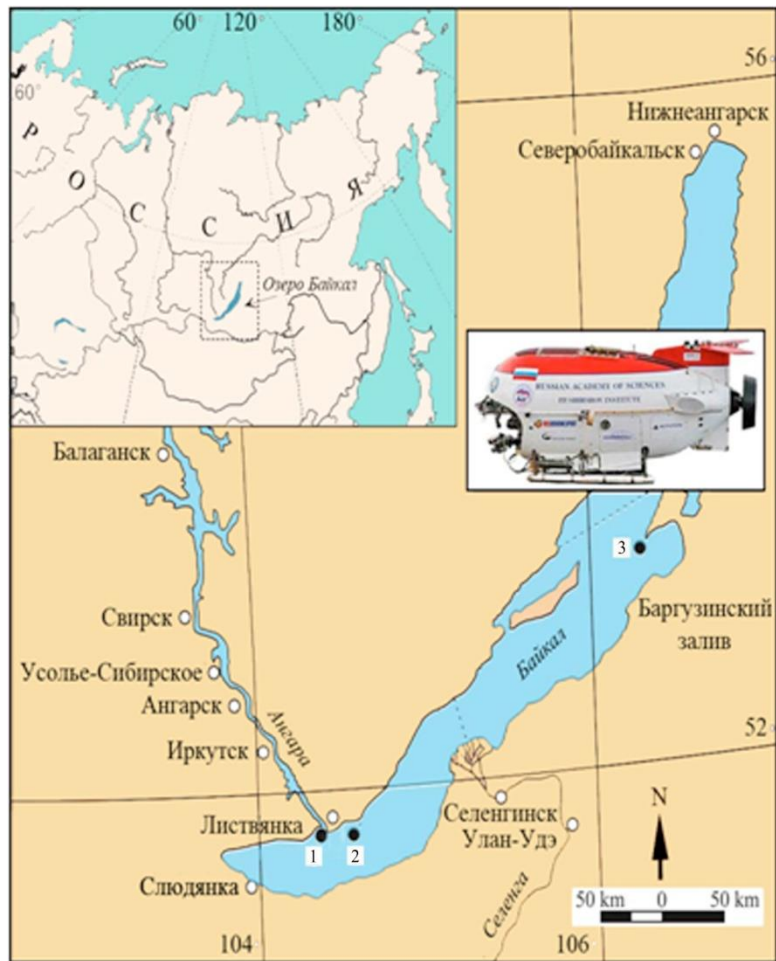
Глуководная придонная: жирная широколобка (*B. nikolskii*)

Прибрежные: каменная широколобка (*P. Knerii*).

Байкальские сиговые рыбы, относящиеся к разным экологическим группам: байкальский омуль (*C. autumnalis migratorius*) пелагической и придонно-глуководной морфо-экологических групп, мелководный озерно-речного сиг (*C. pidschian*), озерный сиг (*C. lavaretus baicalensis*) и баргузинский пыжьян (*C. lavaretus pidschian*).

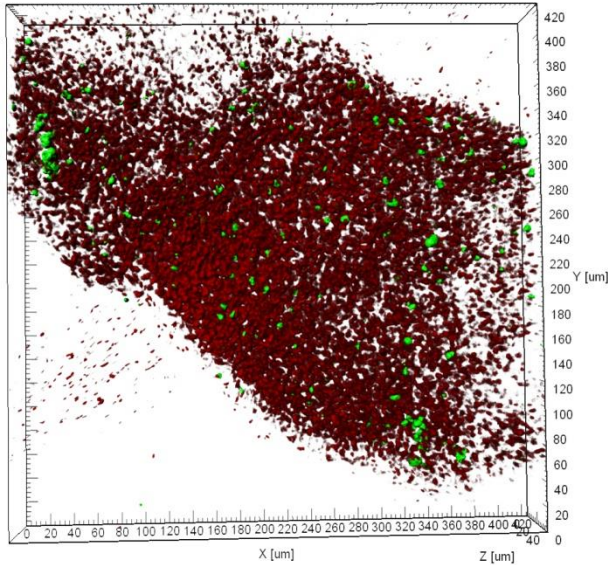
Всего для разных целей использовано 237 экз. рогатковидных, 61 экз. сиговых рыб, а также 17 экз. жемчужных гурами (*T. leeri*), 10 экз. обыкновенных голянов (*P. phoxinus*)

Методы: Просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия (обоняние и слух); Лазерная конфокальная микроскопия (обоняние); Атомно-силовая микроскопия (слух); условно-рефректорный метод определения акустической чувствительности у рыб.

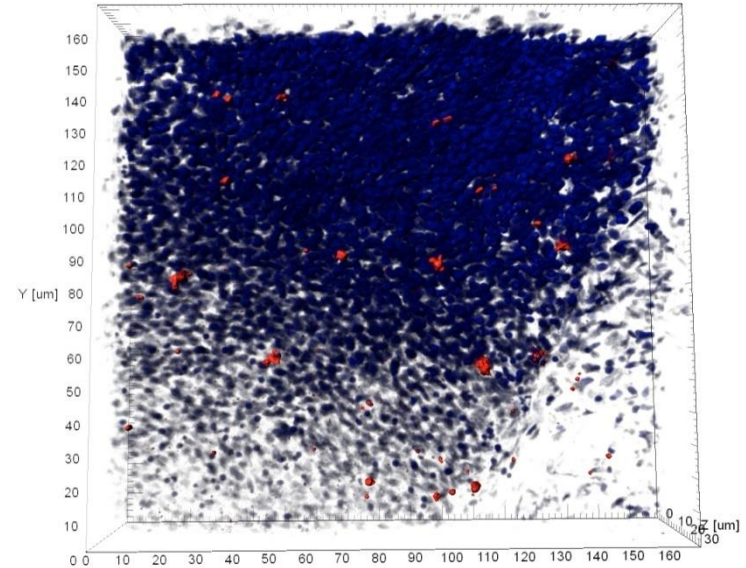


1. п. Листвянка
2. п. Б.Коты
3. Баргузинский залив

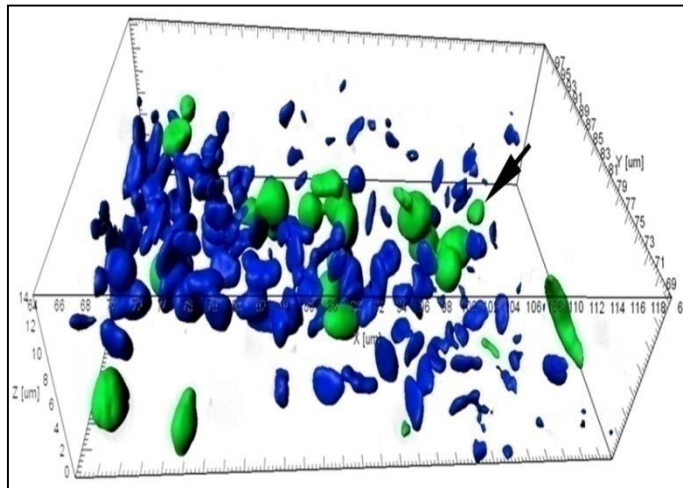
ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР (КОНФОКАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ)



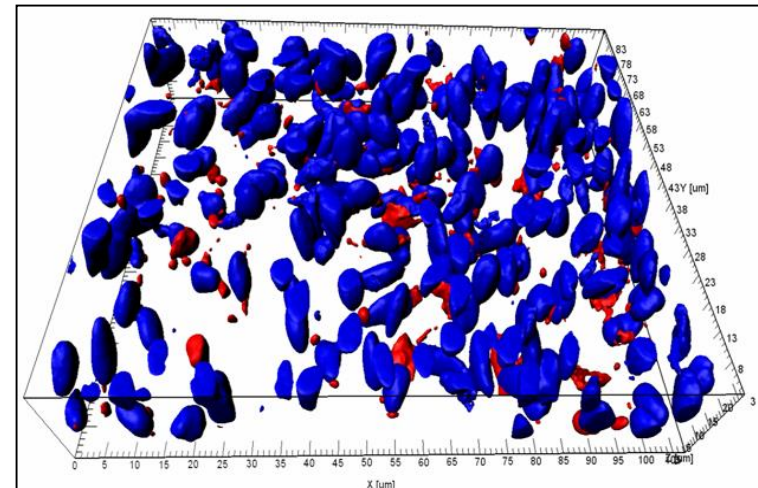
Пролиферативная активность клеток (BrdU)



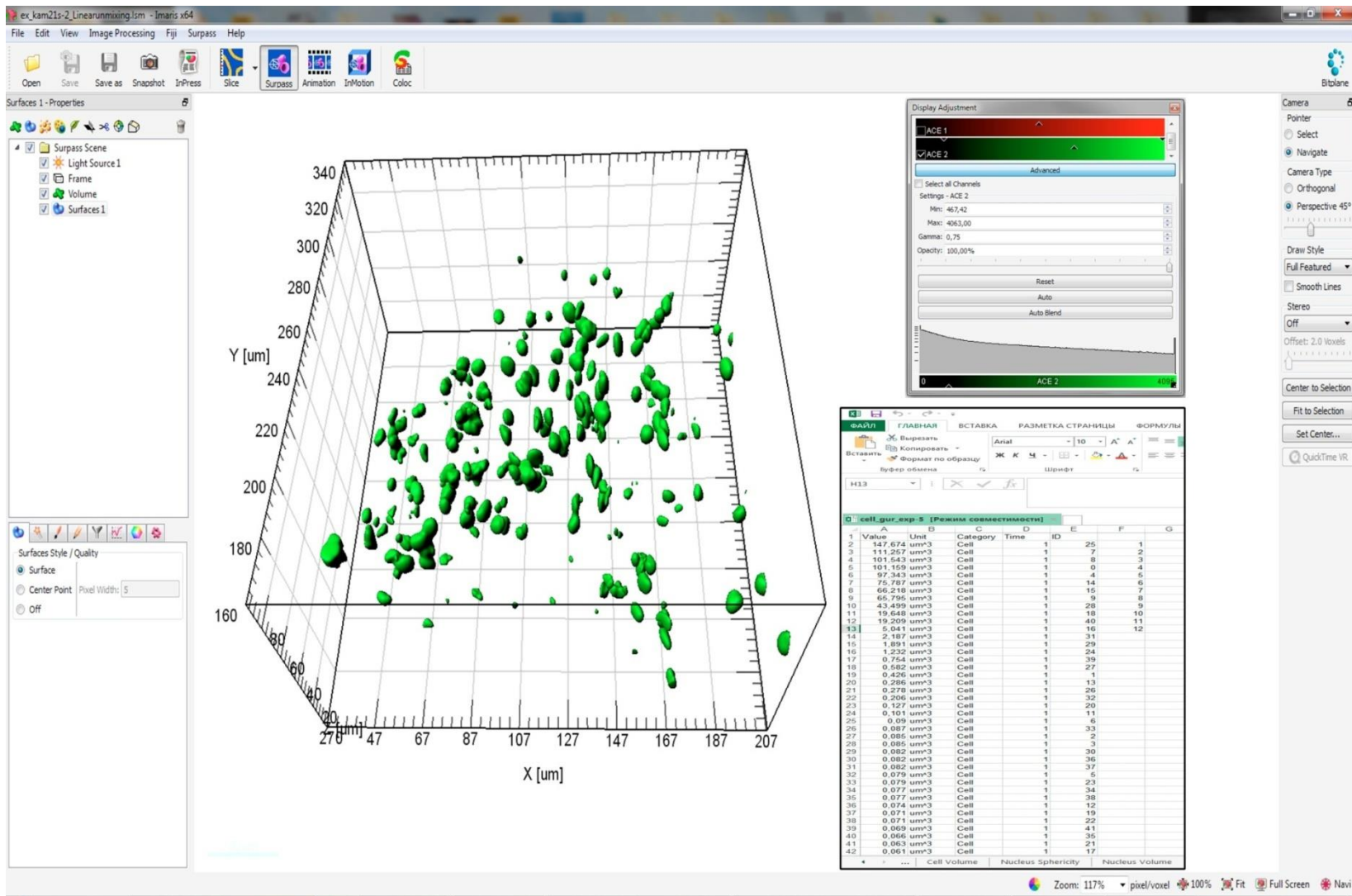
Окраска на АФК (CellROX deep red, красный)
и ядра (DAPI, синий)



Программированная клеточная гибель.
Метод Click-iT® TUNEL



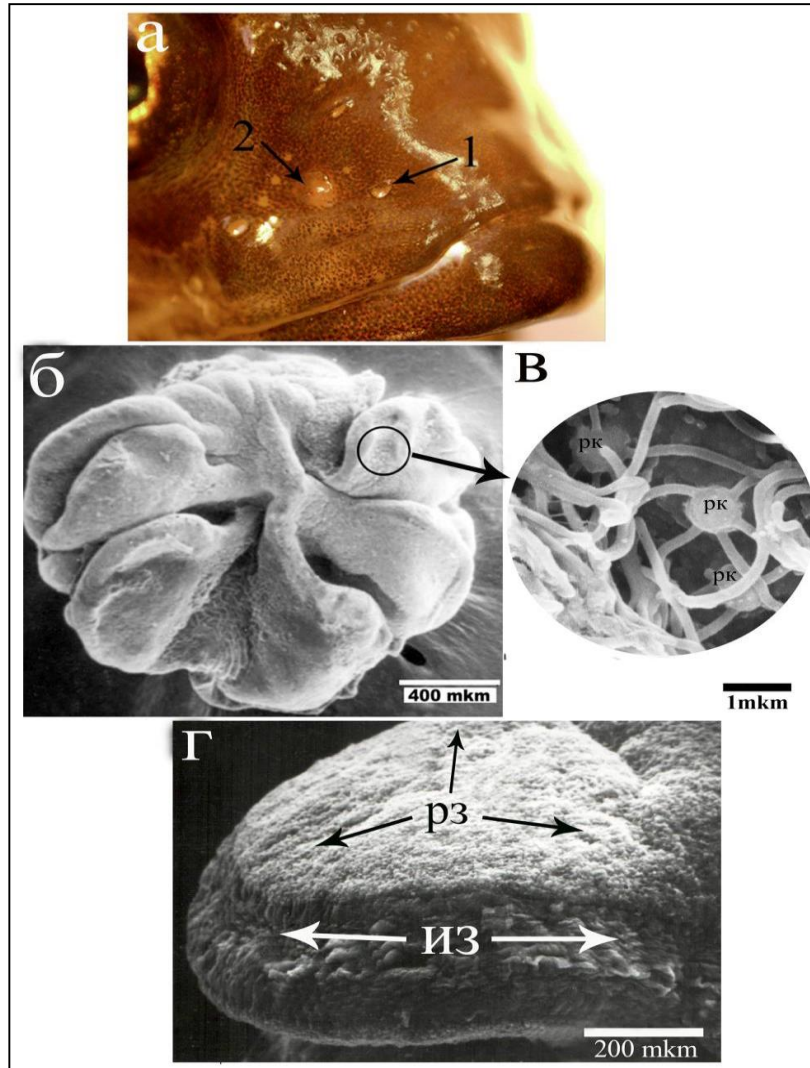
Функционально активные митохондрии (MitoTracker® Orange)
и ядерный материал (DAPI, синий)



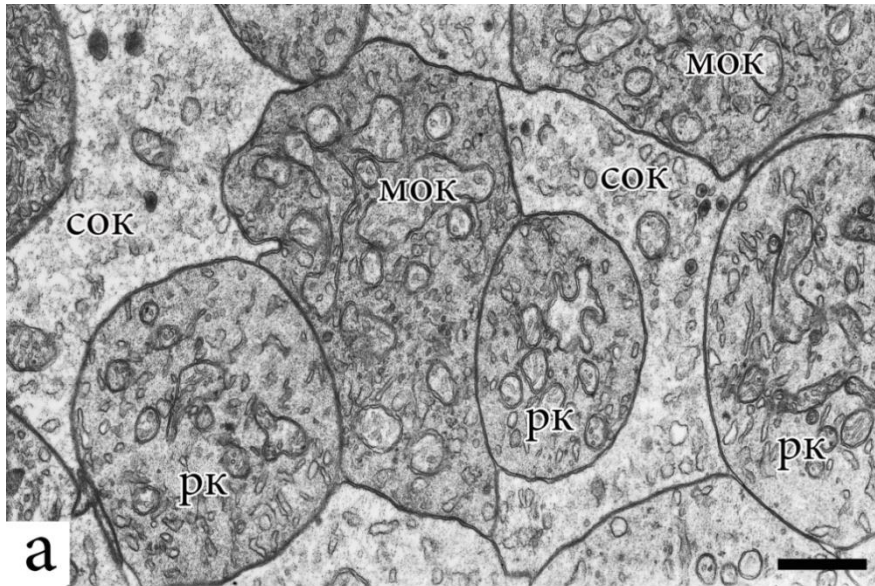
Математическая обработка данных проводилась методами непараметрической статистики: данные представлены в виде медианы и квартилей, значимость различий оценивалась с помощью коэффициентов Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса



ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ОТДЕЛА ОБОНЯТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА У РОГАТКОВИДНЫХ РЫБ ОЗЕРА БАЙКАЛ (НА ПРИМЕРЕ ЖЕЛТОКРЫЛОЙ ШИРОКОЛОБКИ)



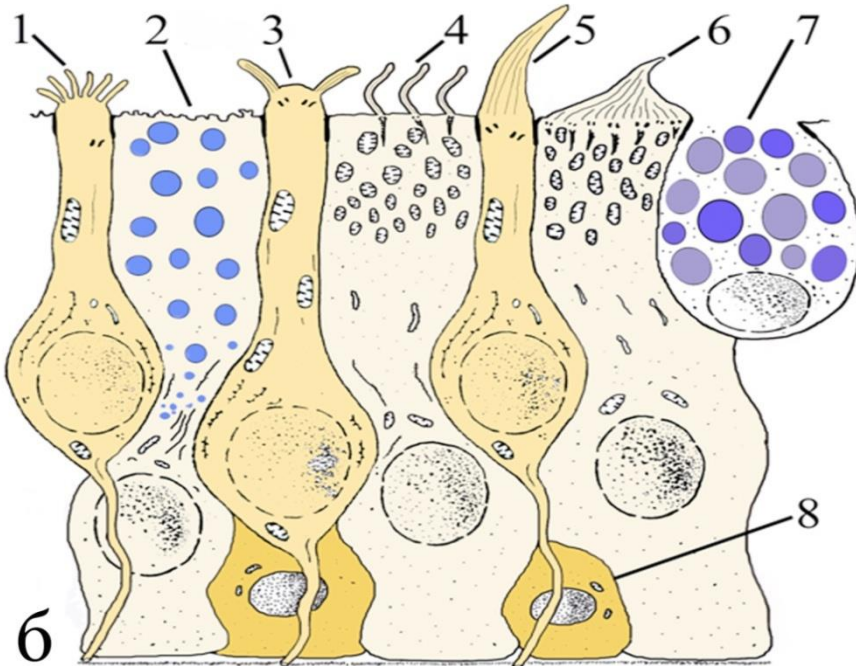
а – внешний вид входного (1) и выходного (2) отверстий в кожном эпителии для тестирования воды в обонятельной ямке;
 б – общий вид обонятельной розетки;
 в – поверхность эпителия с вершинами рецепторных клеток жгутикового типа;
 г – отдельная складка розетки.
 Обозначения: рк – рецепторные клетки, рз – рецепторная зона, из – индифферентная зона.



Строение обонятельного эпителия у рогатковидных рыб (Cottoidei)

А – поперечный срез эпителия у желтокрылки.

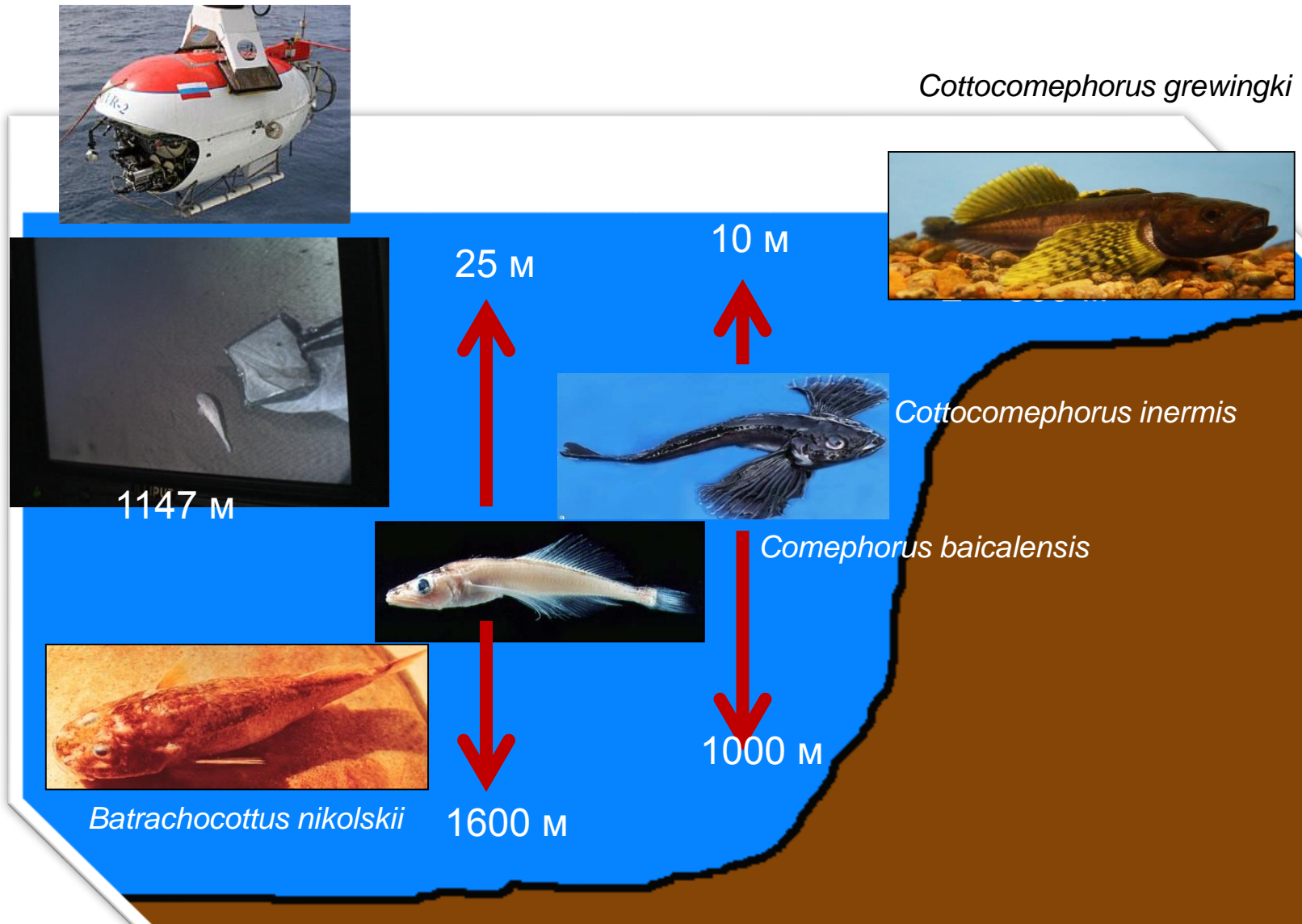
Условные обозначения: рк – рецепторная клетка;
мок – мерцательная опорная клетка;
сок – секреторная опорная клетка.
Масштаб: 1 мкм;



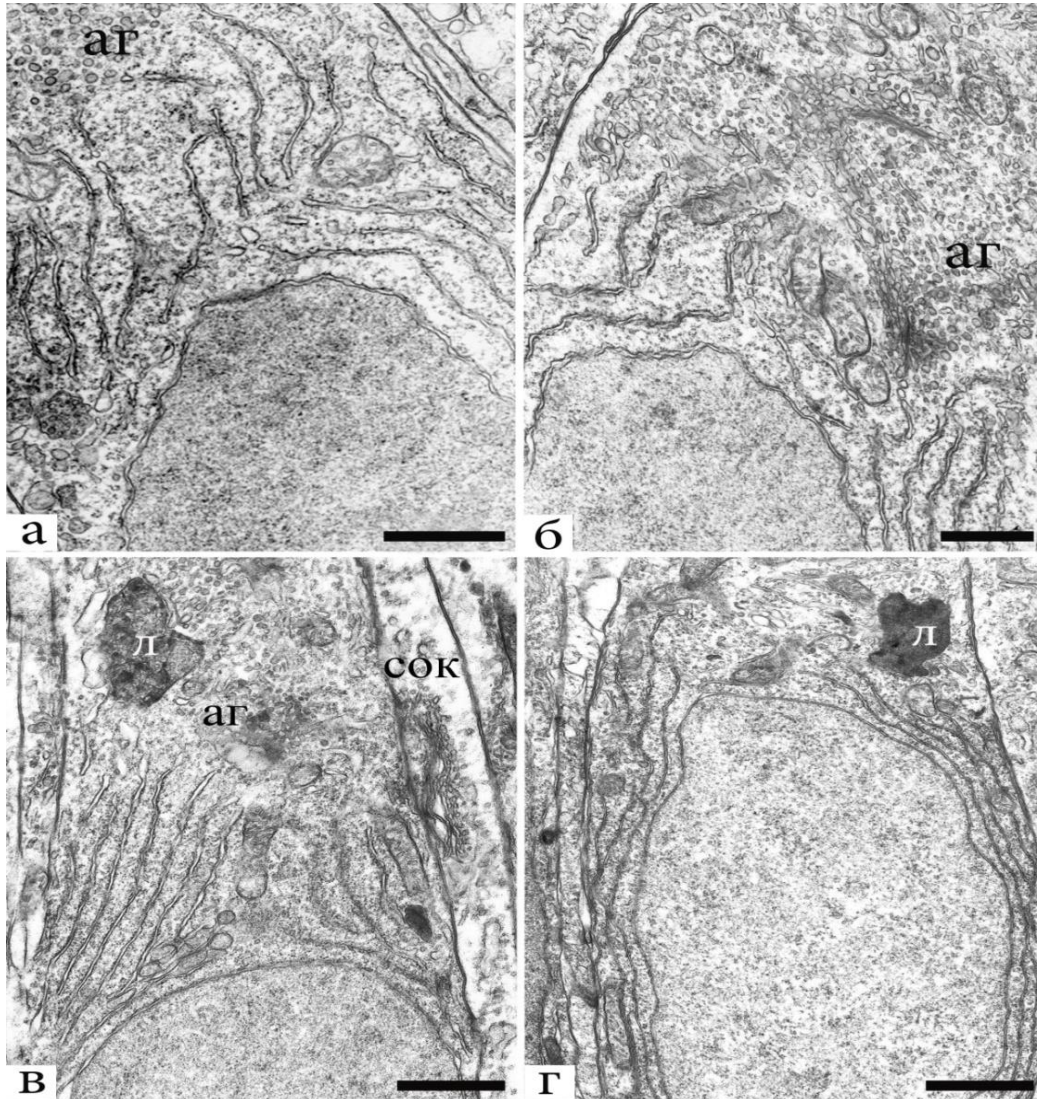
б – особенности строения обонятельного эпителия у байкальских Cottoidei (схема).

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 (стволовая) клетка.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК У РЫБ С РАЗНЫМИ СТРАТЕГИЯМИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ



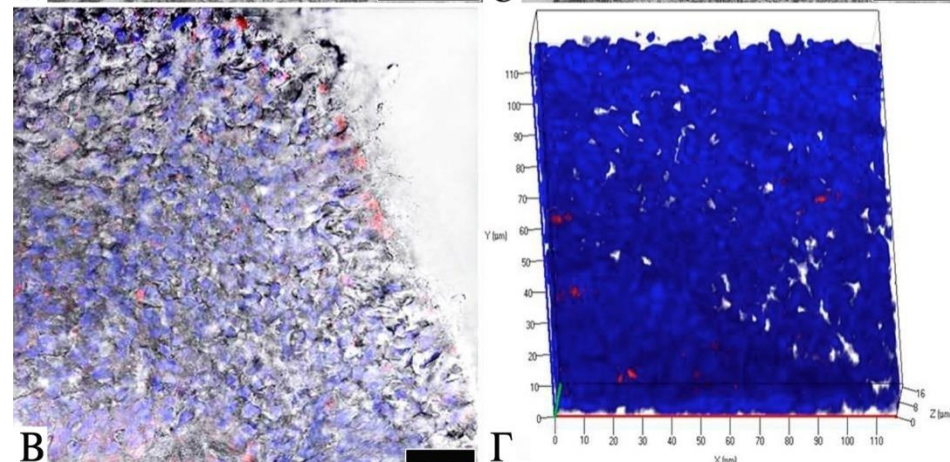
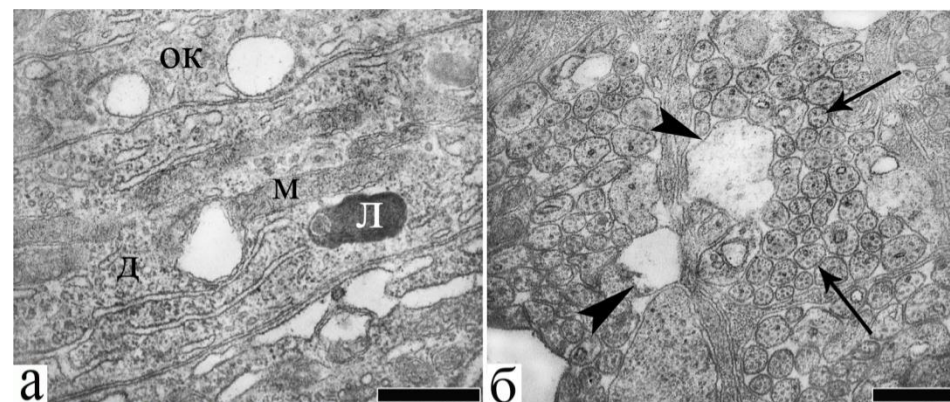
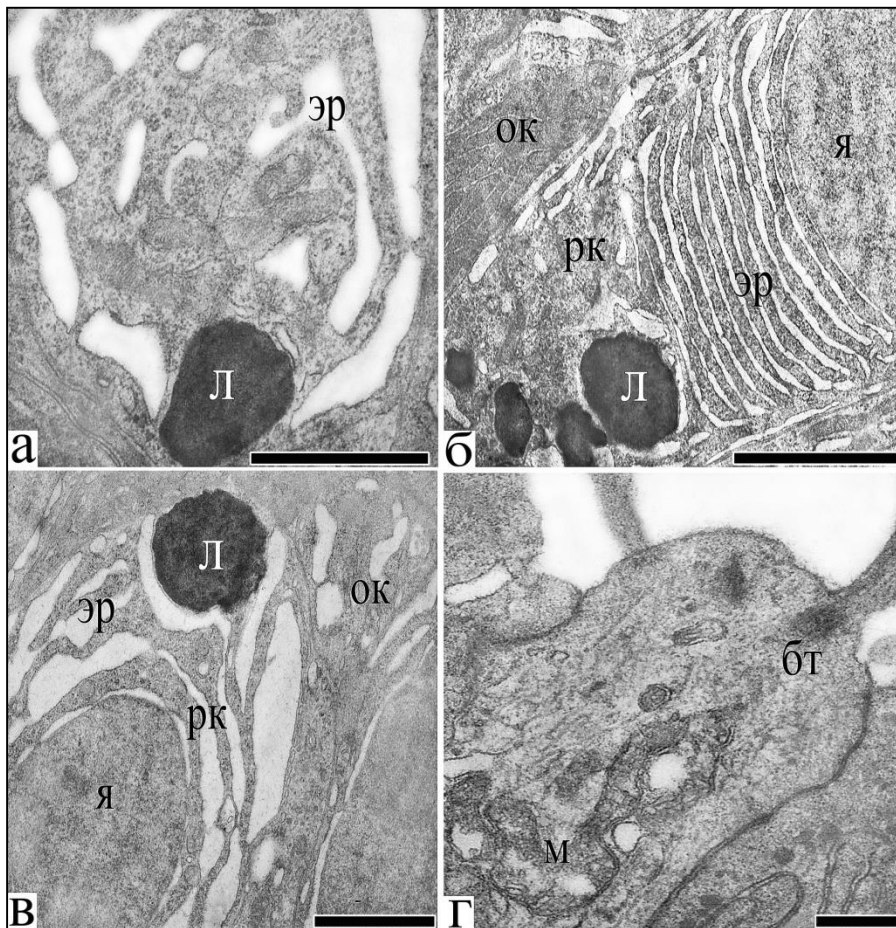
Приядерная зона рецепторных клеток у роговатидных рыб в отсутствии эффектов гипобарической гипоксии (контроль)



Тела рецепторных клеток желтокрылки, выловленной с глубины 10 м.

Упорядоченная сеть каналов эндоплазматического ретикулума; низкая плотность рибосом (а, б); повышенное содержание гранул липофусцина (в, г).
 Обозначения: аг – аппарат Гольджи; л – липофусцин; сок – секреторная опорная клетка. Масштаб: 1 мкм.

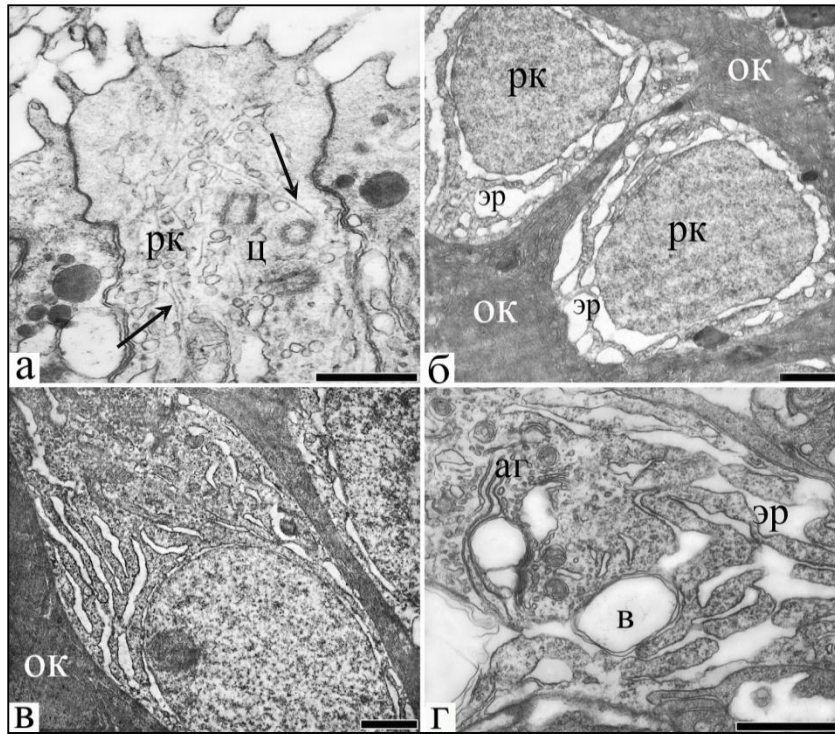
Дегенеративные изменения митохондрий в клетках эпителия у бентосной жирной широколобки (200 м)



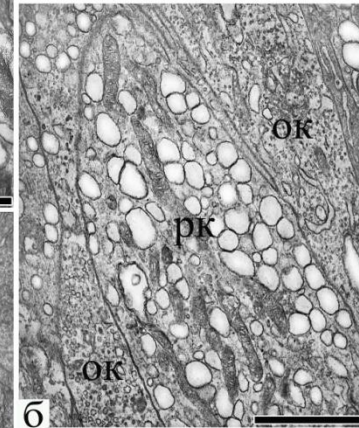
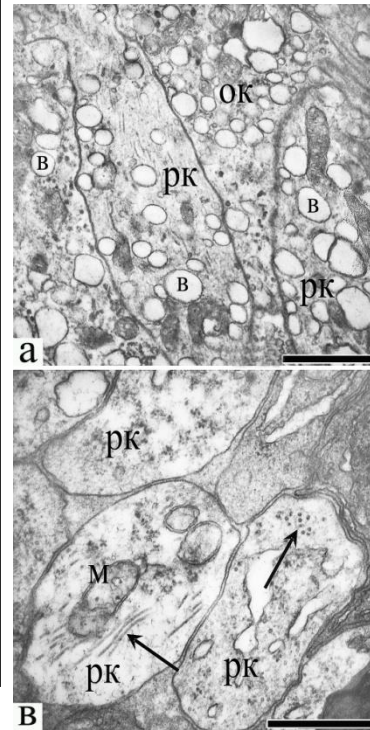
А-в – приядерная зона рецепторных клеток;
 г – апикальный участок обонятельной клетки.
 Масштаб: а – в – 2 мкм; г – 0,5 мкм.

А – участок дендрита; б – дегенеративные изменения
 центральных отростков; в, г – участок эпителия;
 окраска на ядерный материал (DAPI, синий) и митохондрии
 (MitoTracker® Orange); в - 2D; г - 3D-реконструкция;
 конфокальная микроскопия. Масштаб: а, б – 1 мкм; в – 20 мкм.

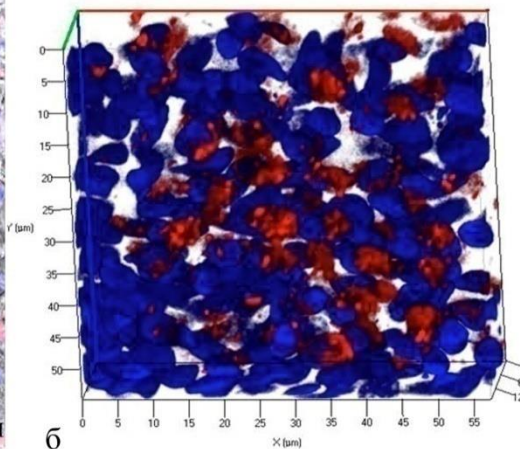
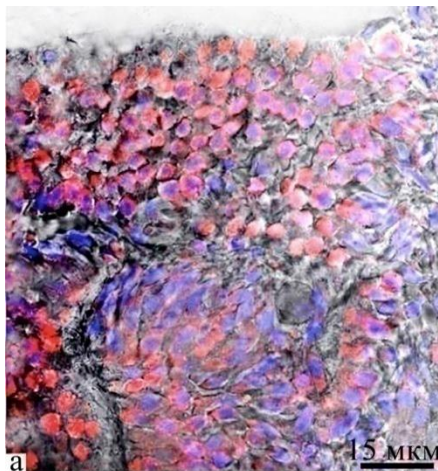
Цитохимические особенности клеток обонятельного эпителия у пелагической длиннокрылой широколобки (глубина 200 м)



Масштаб: 1 мкм

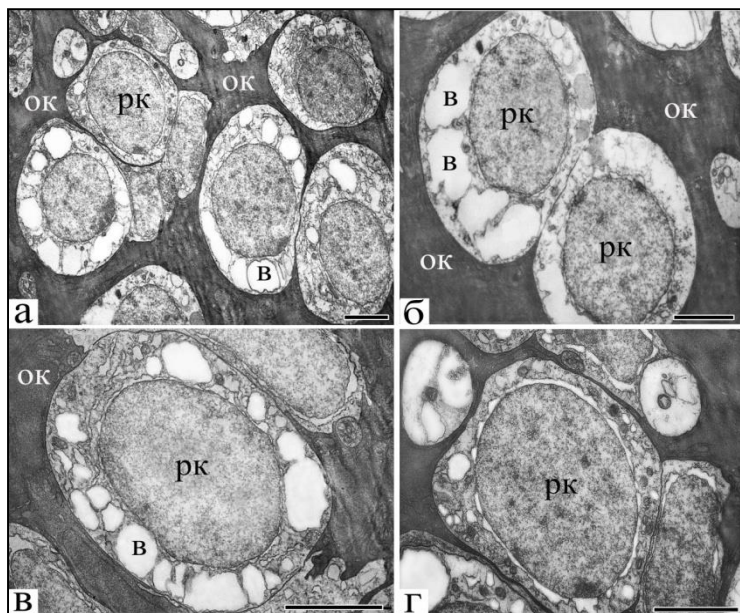


Масштаб: 2 мкм

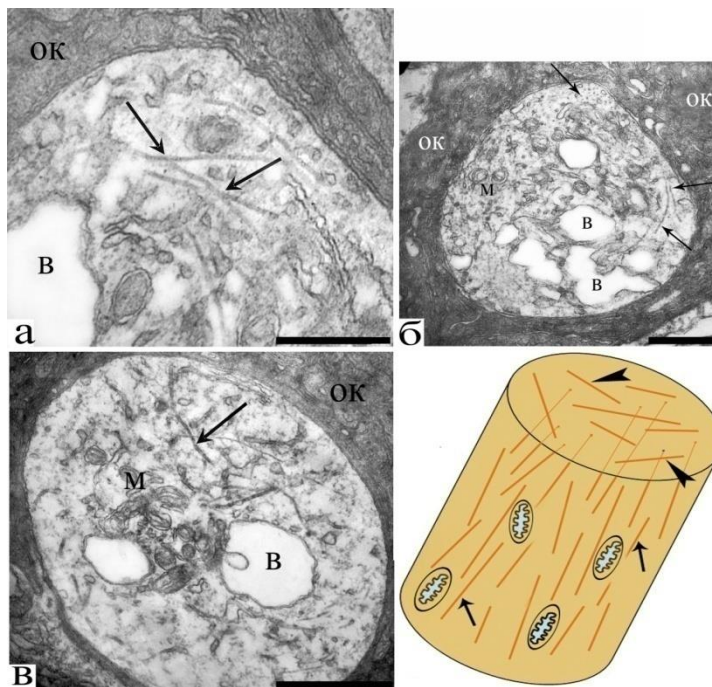


Окраска на ядерный материал (DAPI, синий) и митохондрии (MitoTracker® Orange); а – 2D; б – 3D-реконструкция; конфокальная микроскопия.

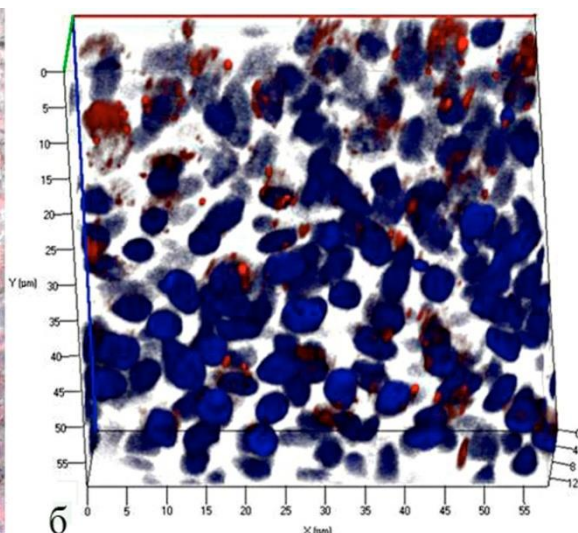
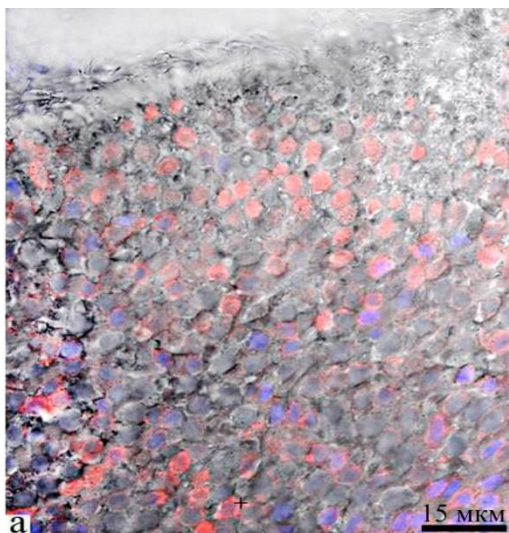
Цитохимические особенности клеток обонятельного эпителия у пелагической большой голомянки (глубина 200 м)



Масштаб: 2 мкм

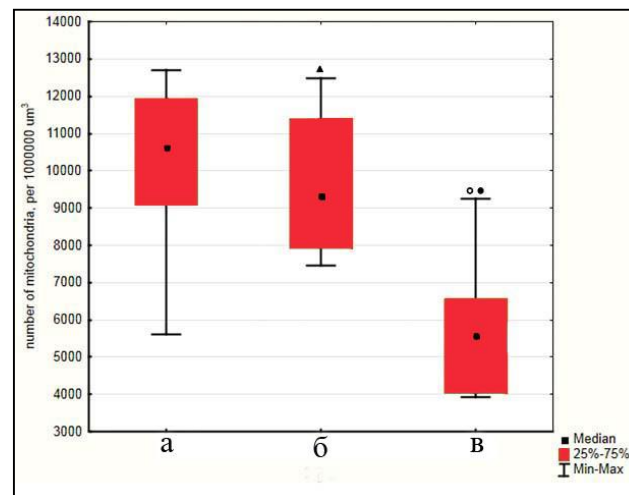
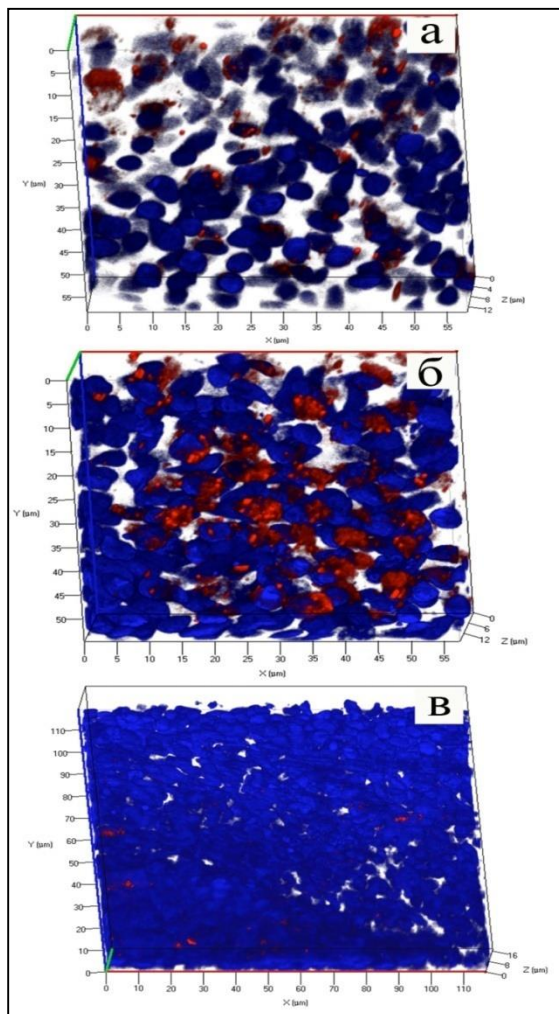


Масштаб 1 мкм



Окраска на ядерный материал (DAPI, синий) и митохондрии (MitoTracker® Orange); а – 2D; б – 3D-реконструкция; конфокальная микроскопия.

Сравнительная оценка воздействия гипобарической гипоксии на функциональное состояние митохондрий у глубоководных рыб



Количество функционально-активных митохондрий в $1 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ обонятельного эпителия эндемичных рыб озера Байкал.

Пелагические: а – *C. baicalensis*, б – *C. Inermis*.

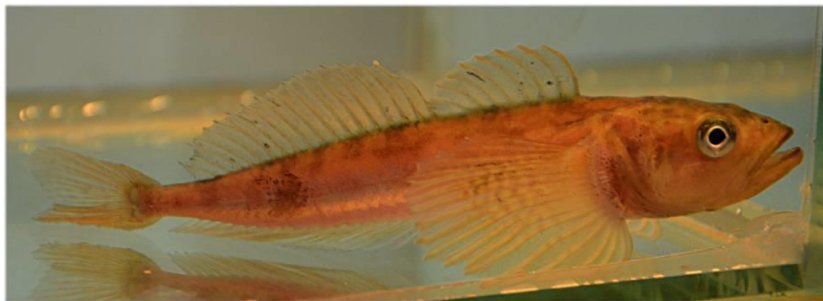
Донная: в – *B. nikolskii*).

▲ – $p = 1,000$ в сравнении с *C. baicalensis*; ○ – $p = 0,047$ в сравнении с *C. baicalensis*; ● – $p = 0,119$ в сравнении с *C. inermis*.

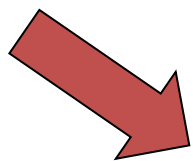
В сравнении с бентосными, обонятельный эпителий пелагических рыб показывает существенно большую структурно-функциональную стабильность к действию гипобарической гипоксии, что, вероятно, является результатом их естественного гипоксического прекондиционирования, возникающего в результате постоянных вертикальных миграций в процессе пищевого поведения.

АДАПТИВНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТК ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ИХ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА И В ПЕРИОД НЕРЕСТА

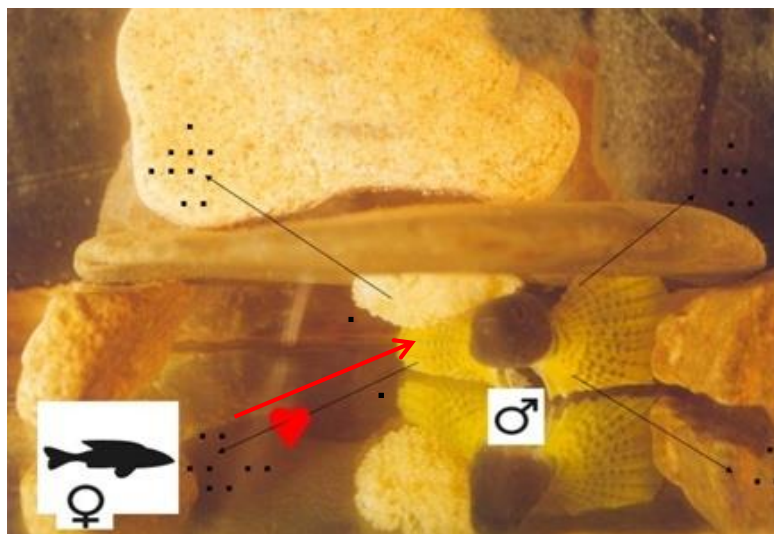
Межнерестовый период



Выявление цитохимических критериев повышенной чувствительности обонятельных рецепторных клеток

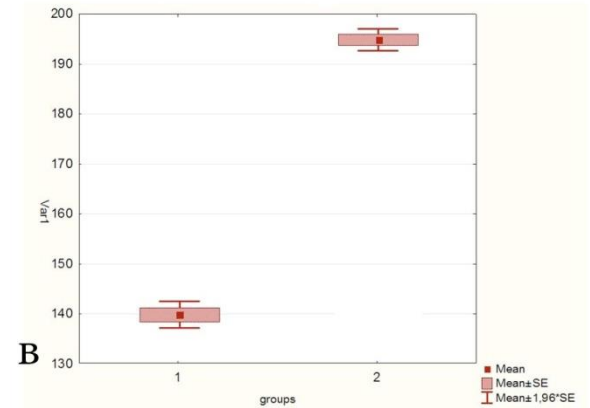
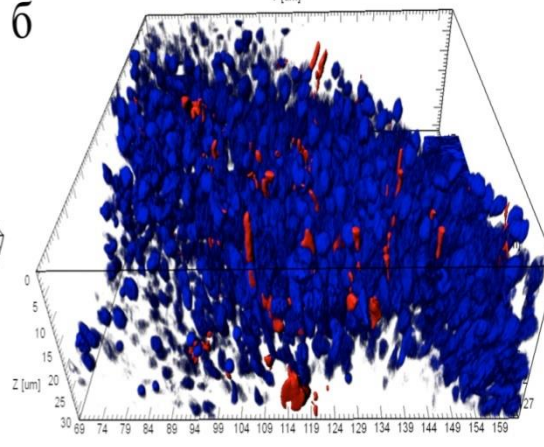
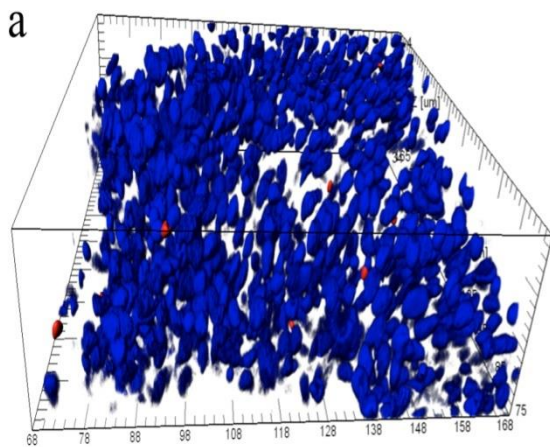
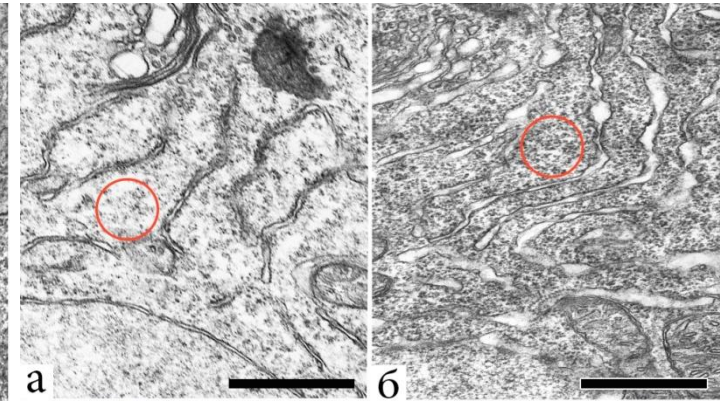
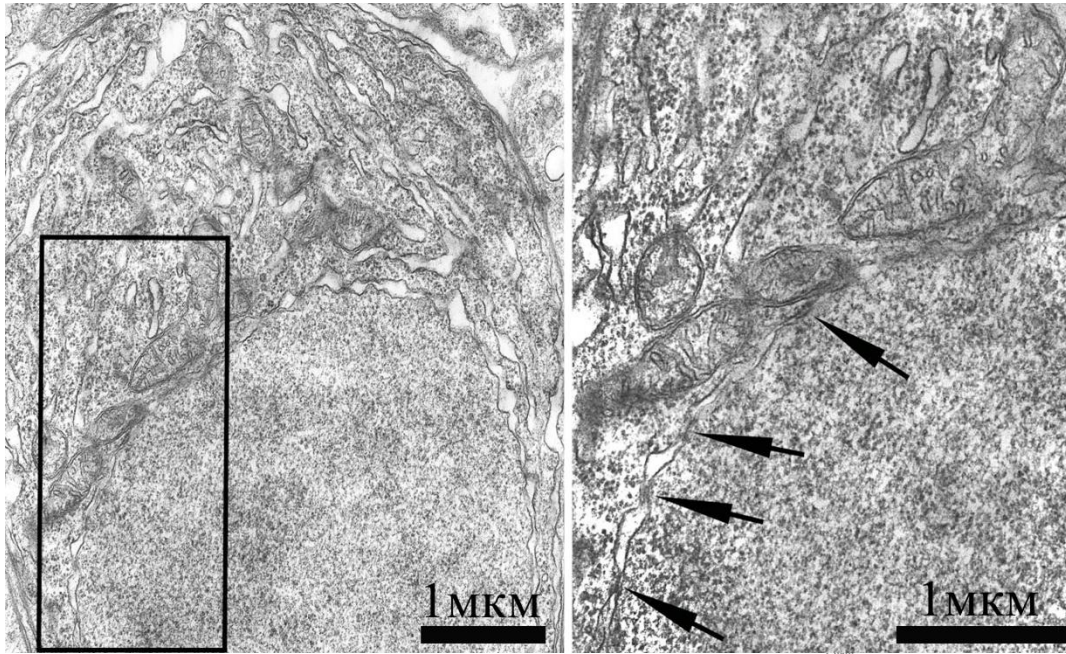


Половой феромон самки:
стероид 17-дигидроксипрогестерон
Эффективная концентрация: 10^{-11} – 10^{-13} М.



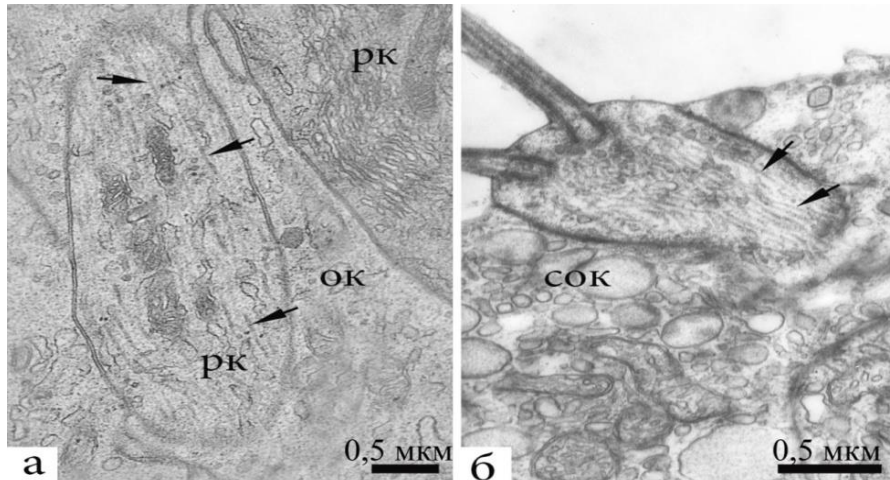
Репродуктивный период

Фаза повышенной обонятельной чувствительности рецепторных клеток: 15 активация ядерно-цитоплазматических взаимодействий, увеличение количества рибосом и функционально-активных митохондрий

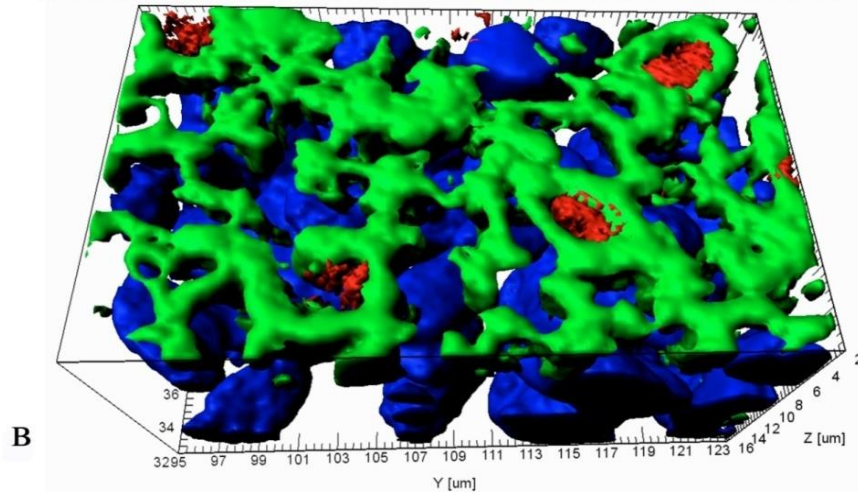


Окраска на ядерный материал (DAPI, синий), митохондрии (MitoTracker® Orange) ; 3D-реконструкции; конфокальная микроскопия

Формирование упорядоченной системы микротрубочек и увеличение количества функционально активных митохондрий в терминалях дендритов рецепторных клеток

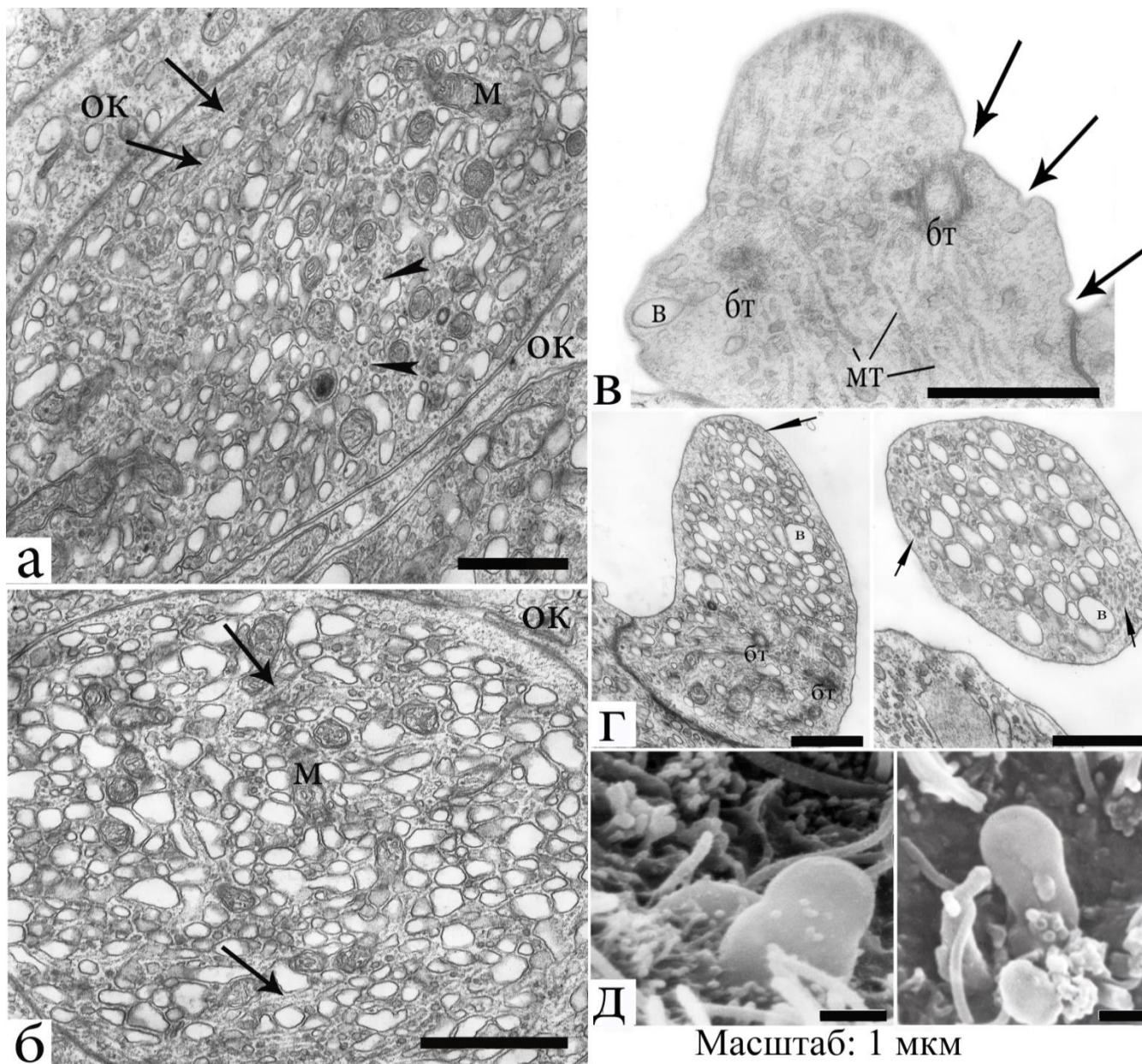


Окраска на ядерный материал (DAPI, синий), митохондрии (MitoTracker® Orange) и актиновые микрофиламенты (фаллоидин, Меченый FITC, зеленый); 3D-реконструкции; конфокальная микроскопия

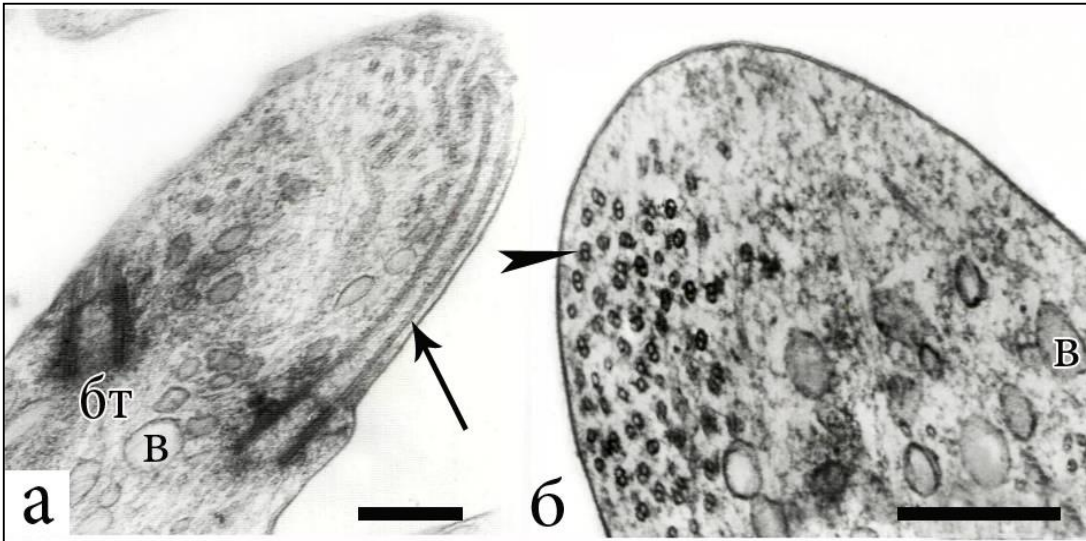


Вывод:
В смене фаз сложного репродуктивного поведения рыб важную роль играют не только центральные механизмы нервной системы, но и адаптивные перестройки периферического хемочувствительного аппарата.

Переход рыб к родительскому поведению (охрана икры): трансформация клеток на режим дендритной нейросекреции и прекращение хеморецепции

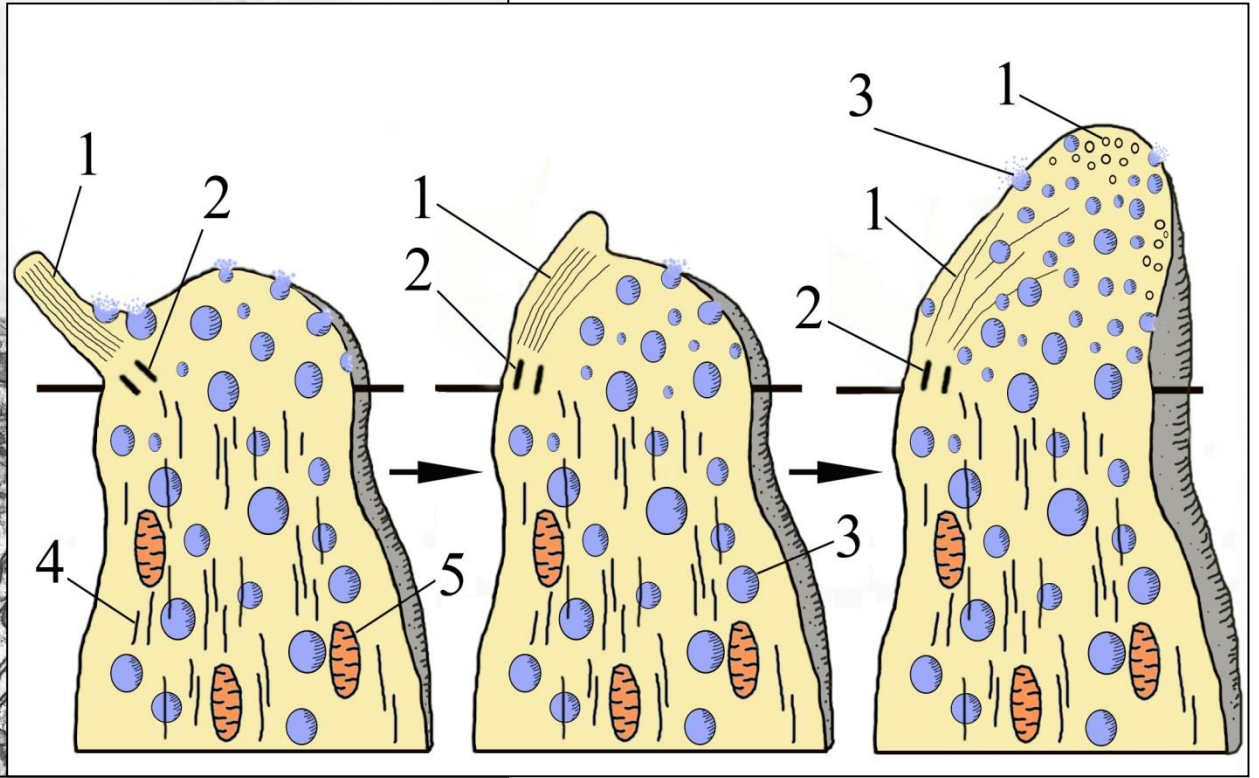


**Морфологические перестройки
вершин рецепторных клеток в процессе
их трансформации на режим
дендритной нейросекреции.**



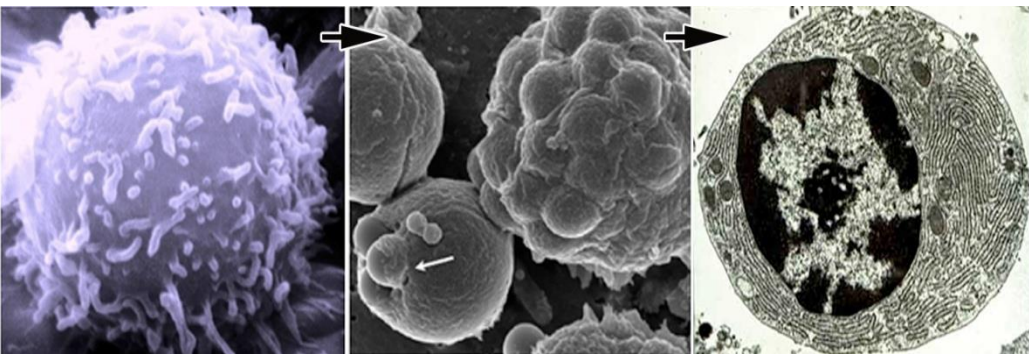
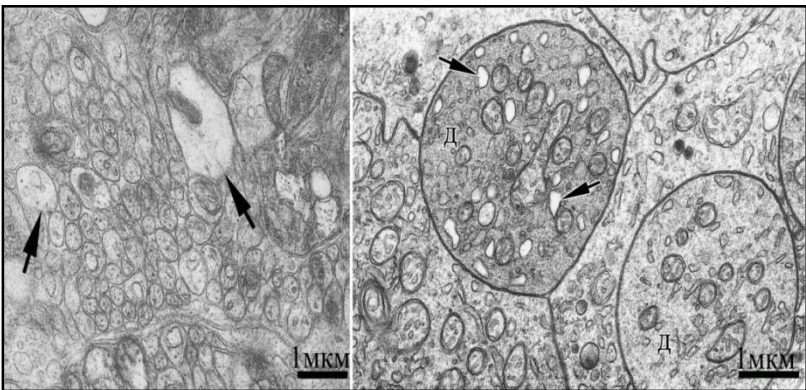
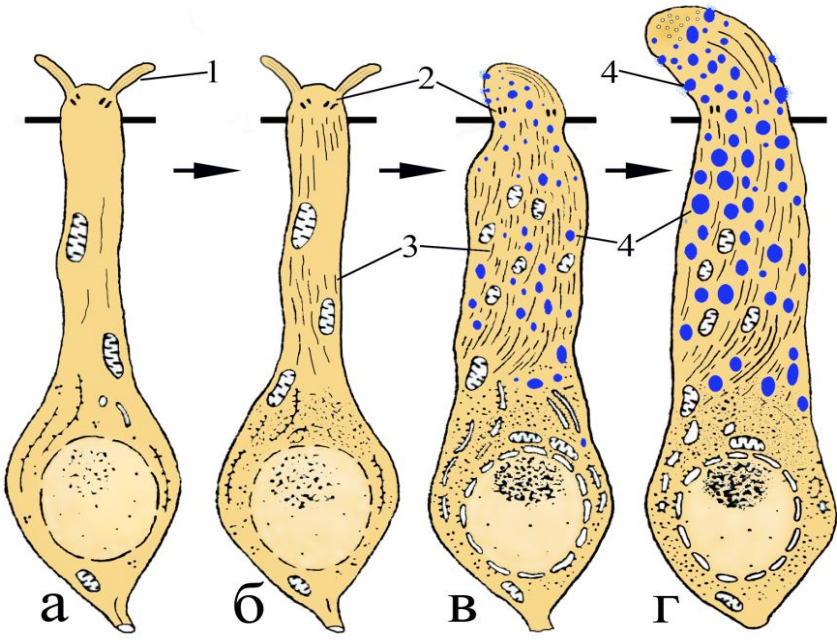
Условные обозначения:
 1– жгутики; 2– базальные тельца;
 3 – микротрубочки дендрита;
 4 – секреторные пузырьки;
 5 – митохондрии.

Масштаб: 0,5 мкм

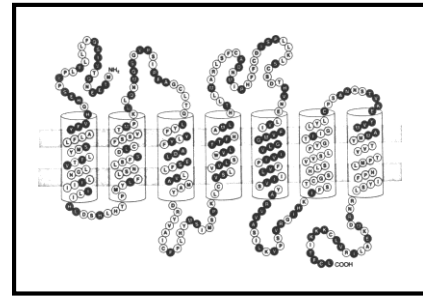


ОБЩИЕ ПРИЗНАКИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРНЫХ КЛЕТОК И В-ЛИМФОЦИТОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

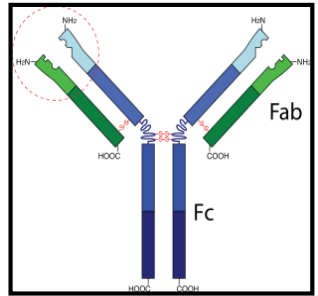
Полиморфизм семейства генов, кодирующих молекулярные рецепторы (Buck L, Axel R, 1991);
Моноспецифичность обонятельных клеток Chess A, Simon I, Cedar H, Axel R, 1994)



Стимул-зависимая дифференцировка В-лимфоцитов

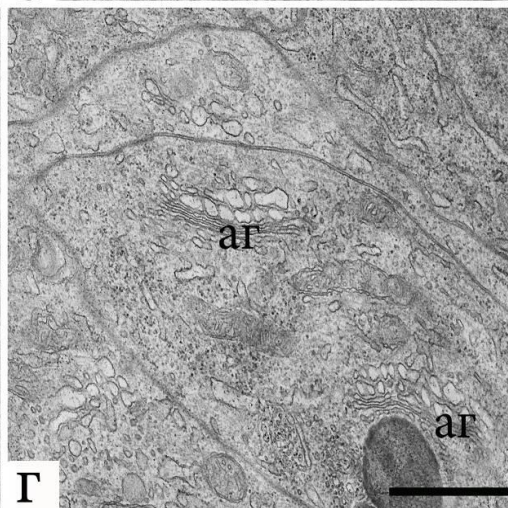
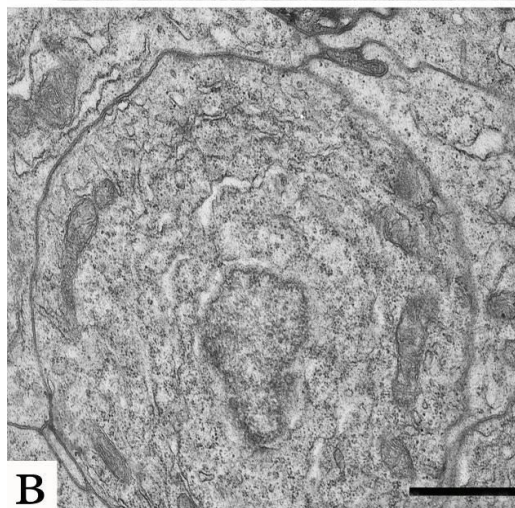
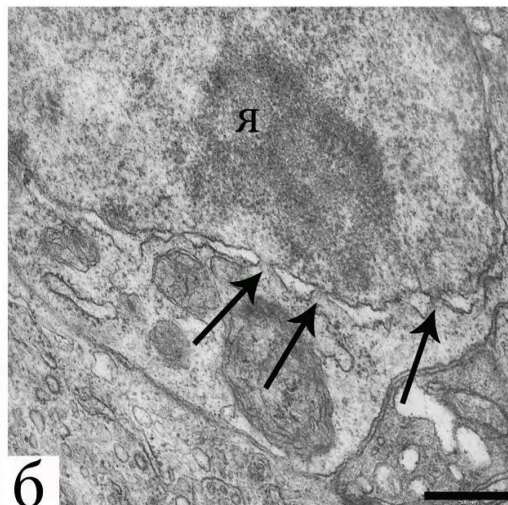
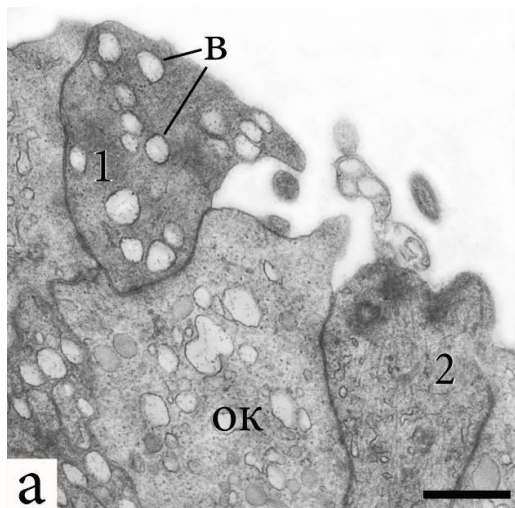


Обонятельный рецепторный белок



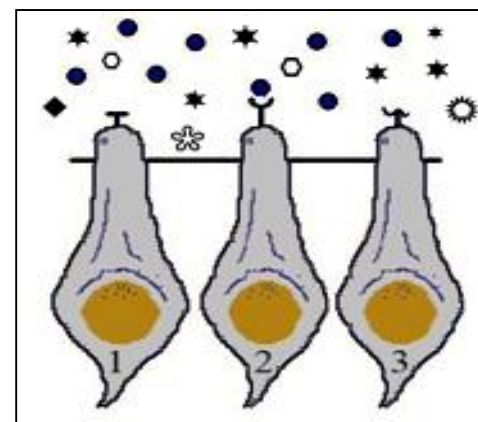
IgG

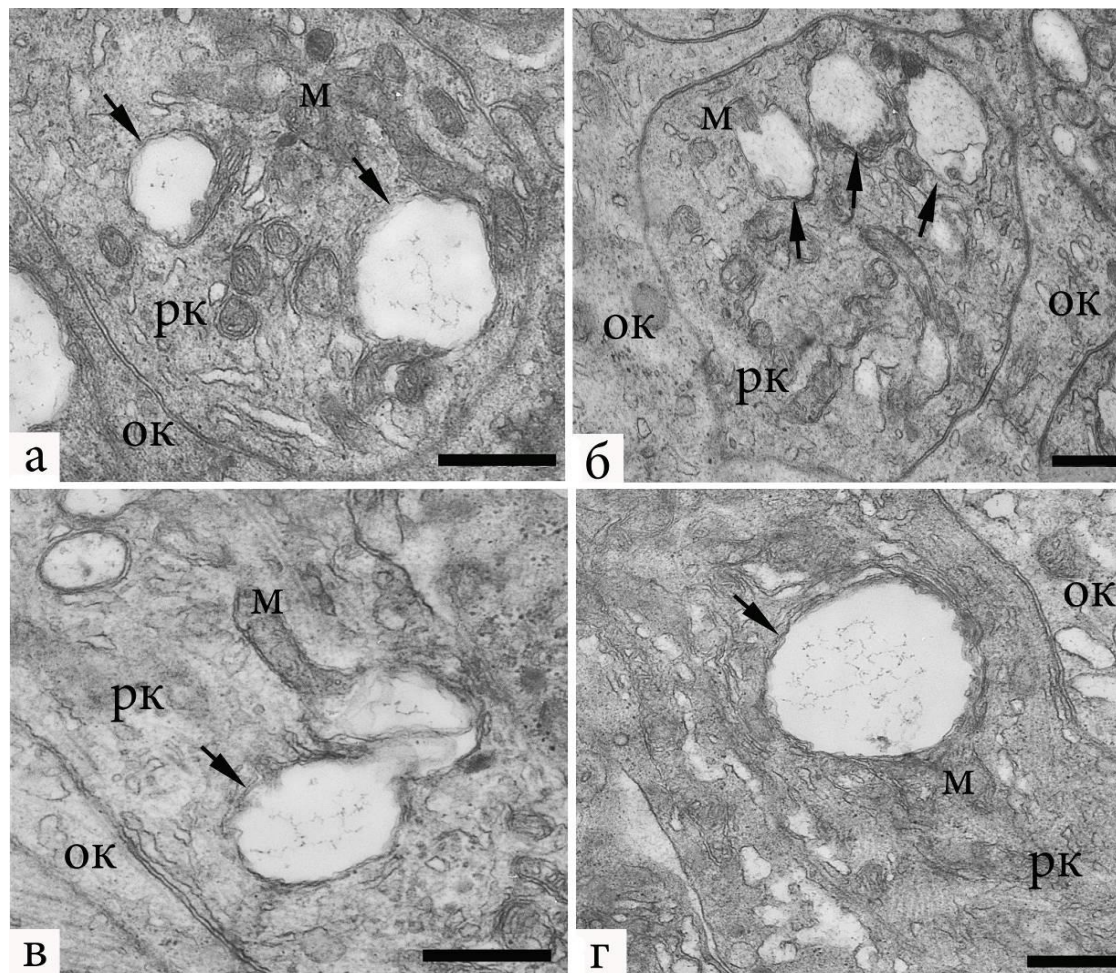
АДАПТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ПОВЫШЕННОЙ СЕНСОРНОЙ НАГРУЗКЕ



Ультраструктурные перестройки обонятельных нейронов у каменной широколобки после продолжительной (15 сут) хемотимуляции гетерогенной смесью аминокислот и пептидов.

Обозначения : ок – опорная клетка; аг – аппарат Гольджи; в – везикулы. Масштаб: а, б – 0,5 мкм; в, г – 1 мкм.

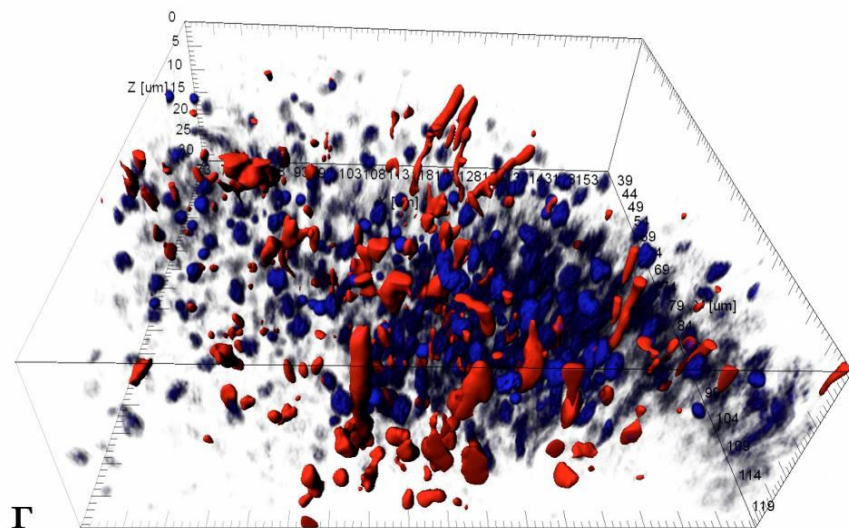
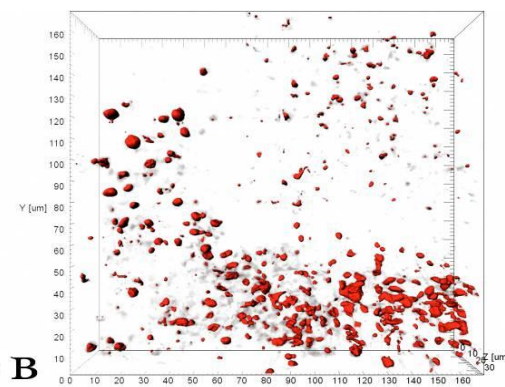
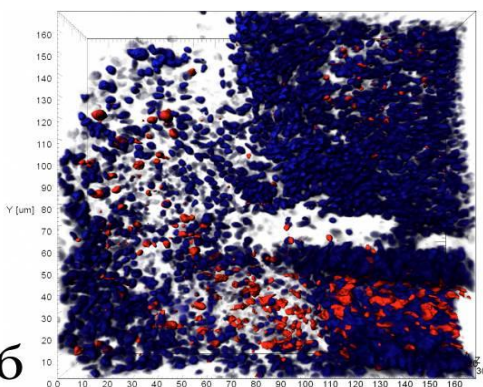
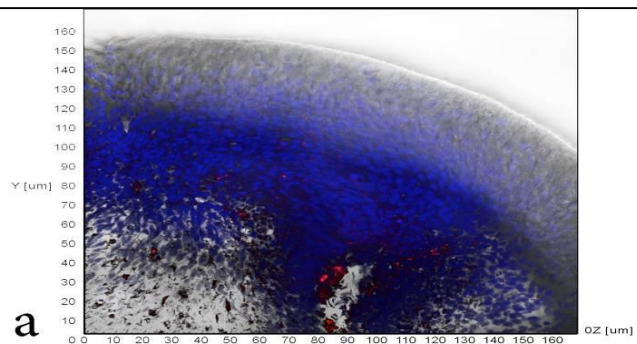


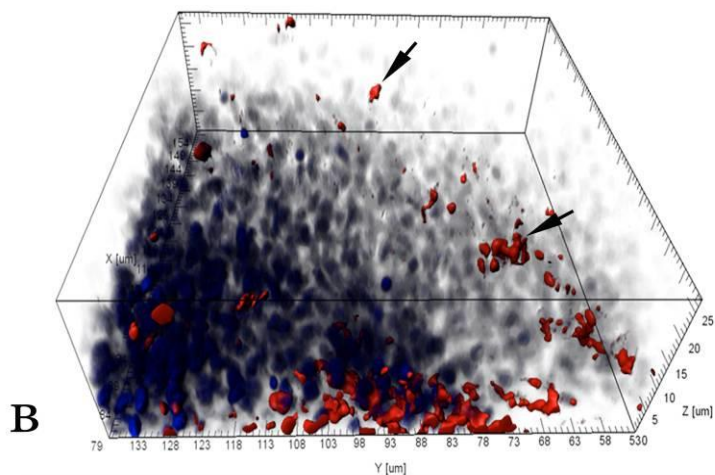
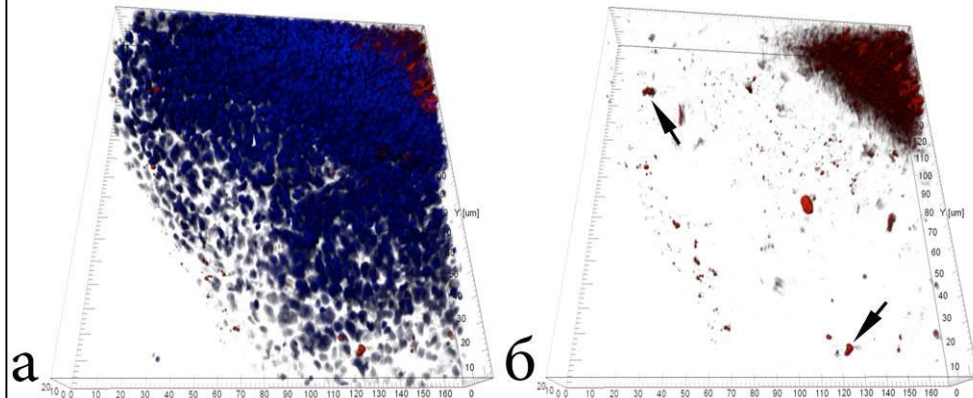


Дегенеративные изменения митохондрий (показаны стрелками) в дендритах обонятельных клеток после длительной (15 сут) одорантной стимуляции гетерогенной смесью аминокислот и пептидов. Поперечные (а, б) и продольные (в, г) срезы дендритов. Масштаб: 0,5 мкм

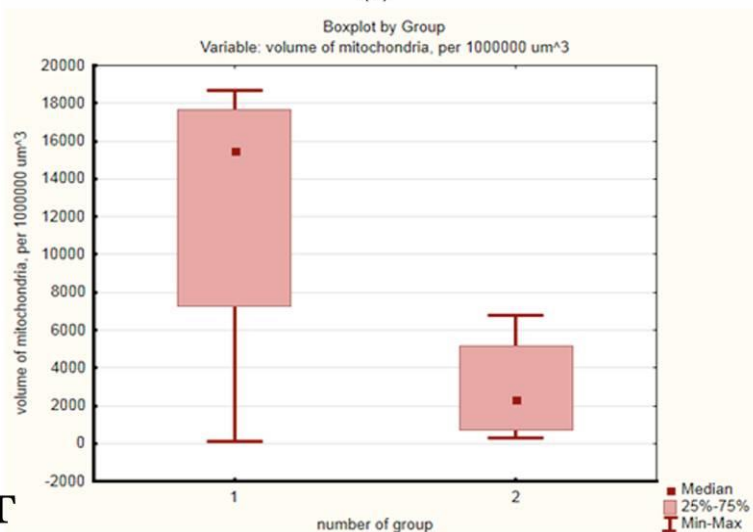
Цитохимическая идентификация митохондрий и ядер клеток ольфакторного эпителия у гурами в контроле.

Окраска на митохондрии (MitoTracker® Orange, красный) и ядерный материал (DAPI, синий); 3D-реконструкции; конфокальная микроскопия





В



Г

Дегенеративные изменения митохондрий в клетках обонятельного эпителия у гурами после длительной (15 сут) экспозиции рыб в гетерогенной смеси пептидов и аминокислот.

Окраска на митохондрии (MitoTracker® Orange, красный) и ядерный материал (DAPI, синий), 3D-реконструкции; конфокальная микроскопия.

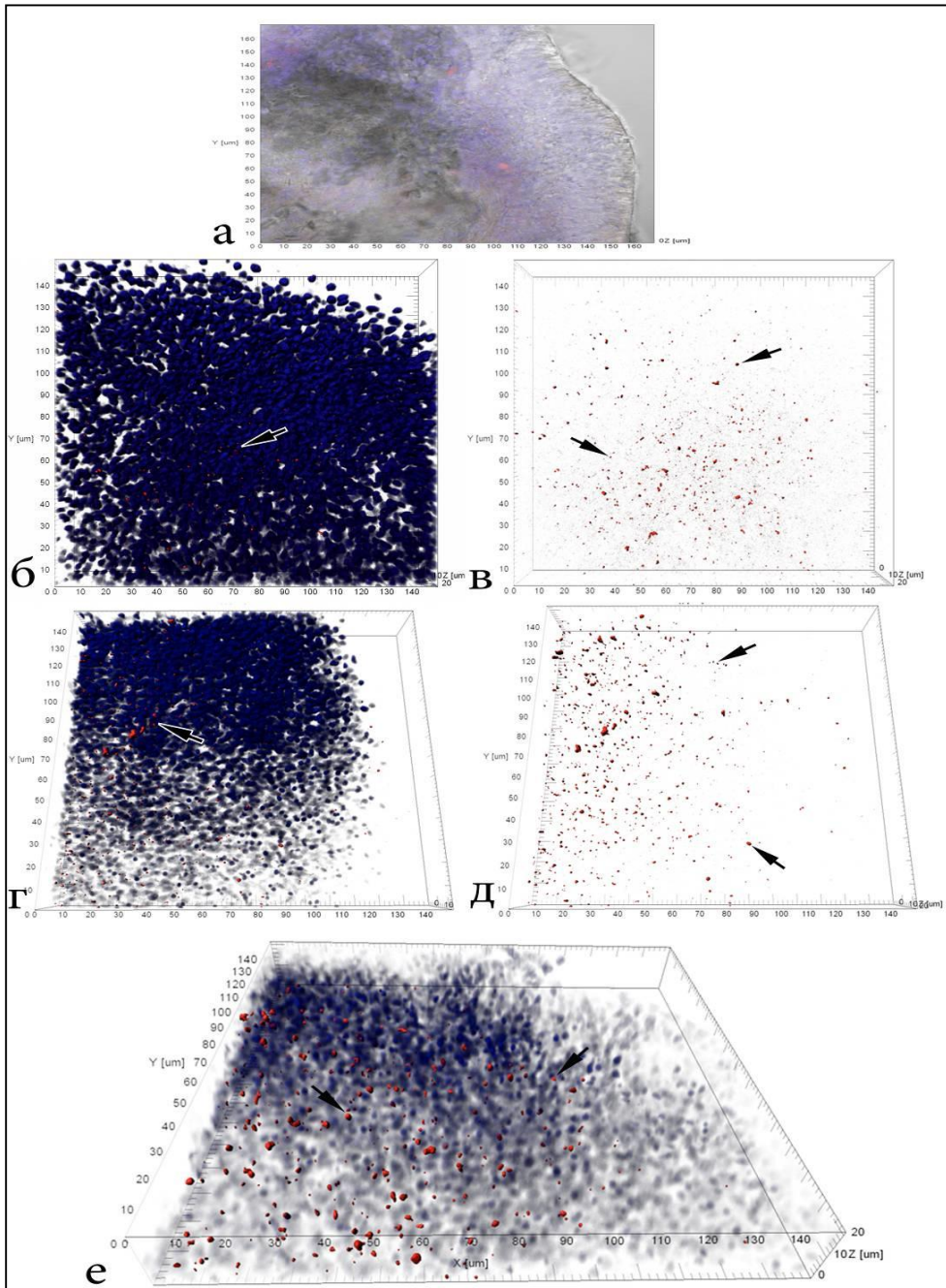
г – существенное снижение (в 6,2 раза) объема, занимаемого функционально активными митохондриями в обонятельном эпителии у Гурами и после продолжительной хемотимуляции смесью аминокислот и пептидов.

Диаграммы построены по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия).

* $p_U=0,312$ в сравнении с группой контроля.

Продукция активных форм кислорода в обонятельном эпителии у гурями в контроле.

Окраска на АФК (CellROX deep red reagent, красный) и ядра (DAPI, синий); конфокальная микроскопия, 3D-реконструкции, поканальное разделение.

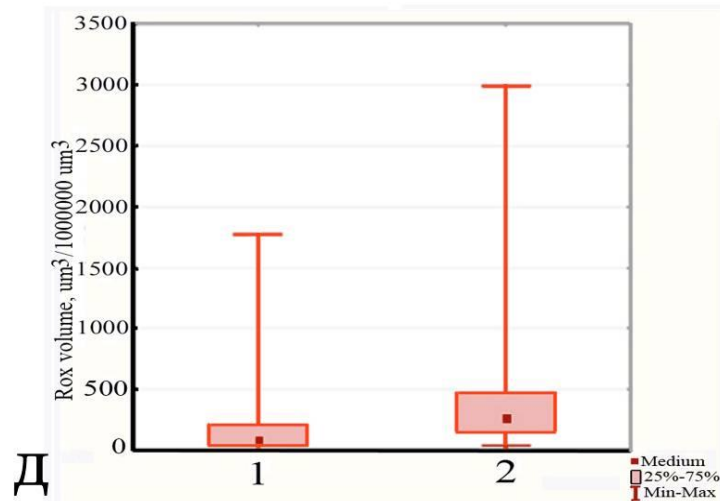
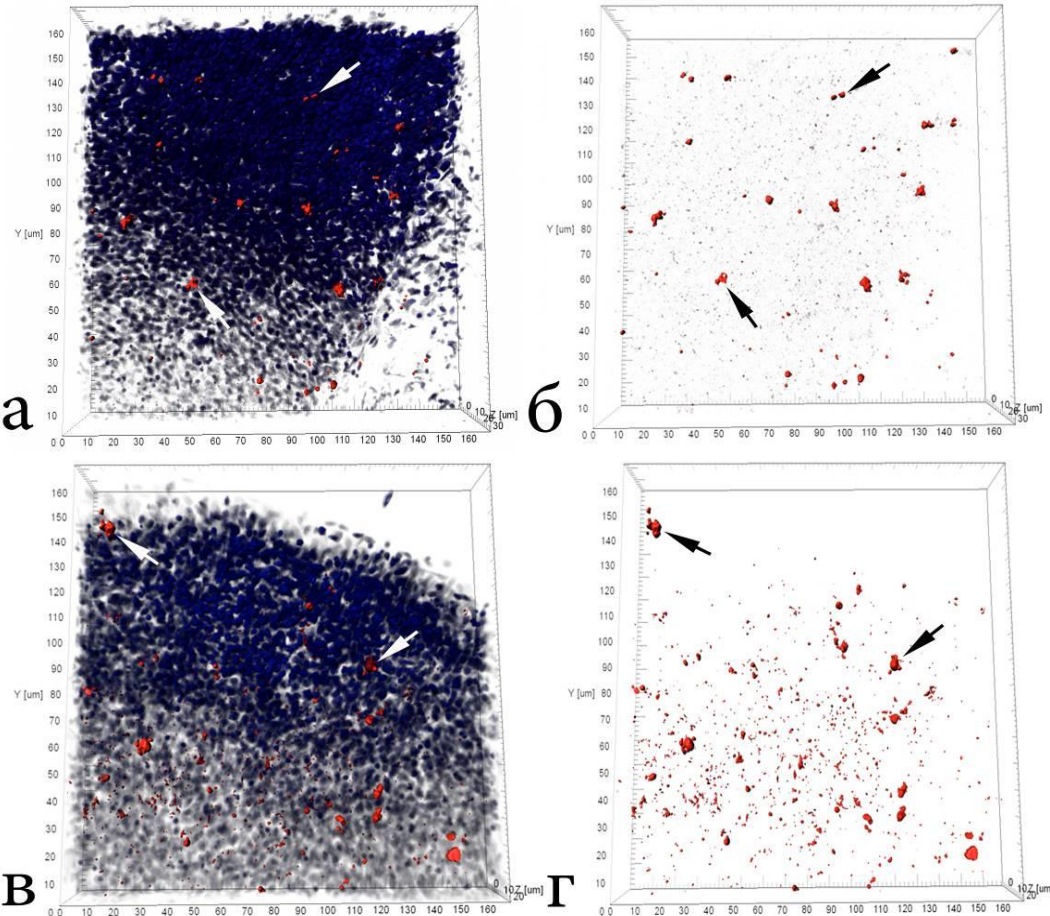


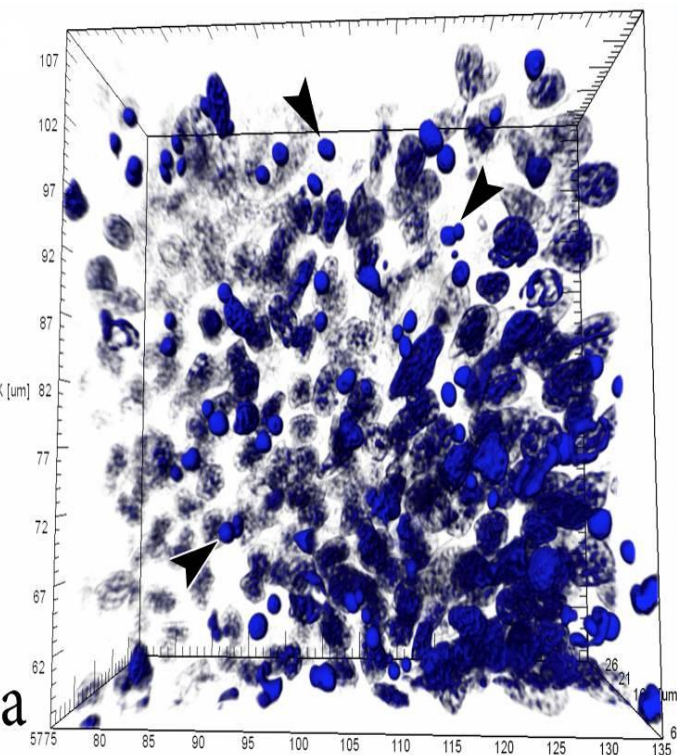
Увеличение продукции АФК (в 3,5 раза) в обонятельном эпителии гурами после продолжительной (15 суток) хемотимуляции гетерогенной смесью аминокислот и пептидов.

Окраска на АФК (CellROX deep red, красный) и ядра (DAPI, синий);
конфокальная микроскопия,
3D-реконструкции, поканальное разделение.

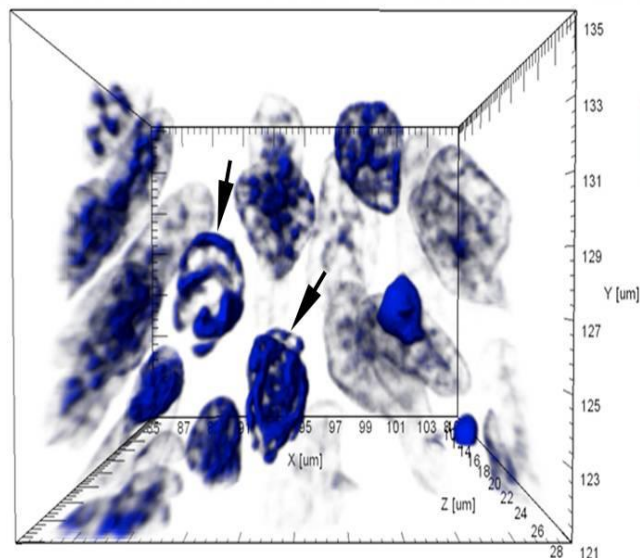
д – сравнительная оценка продукции АФК в контроле (1) и в эксперименте (2).
Диаграммы построены по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия).

* $p_u \leq 0,05$ в сравнении с контролем.

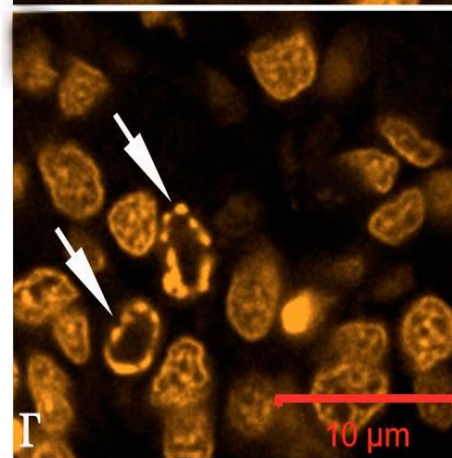
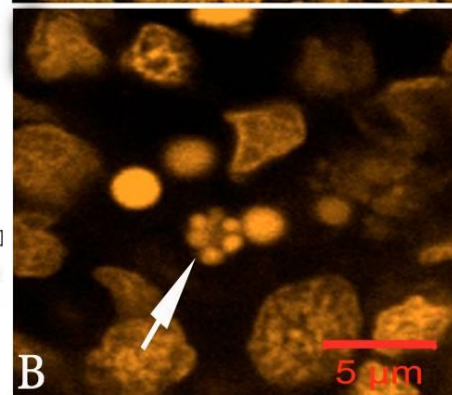
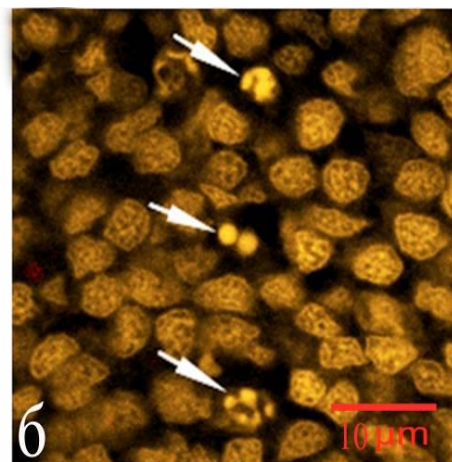




а

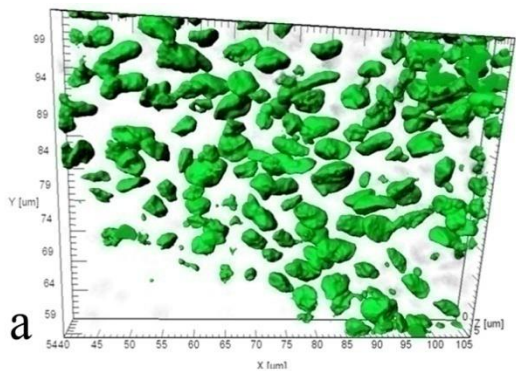


д



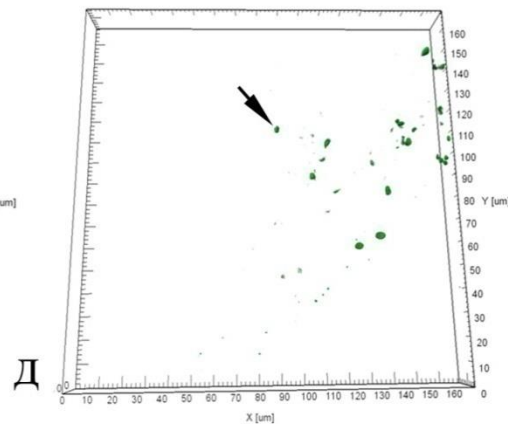
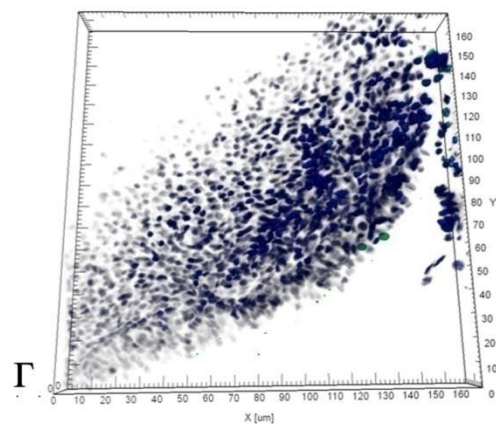
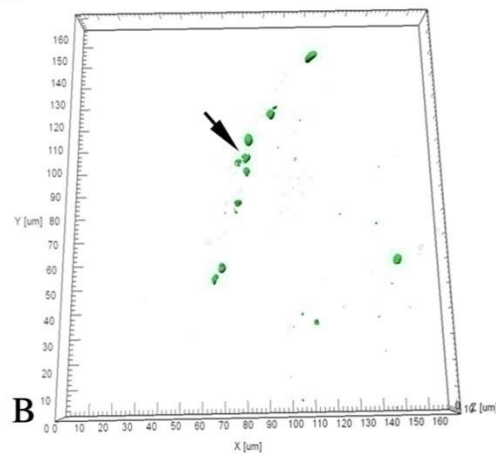
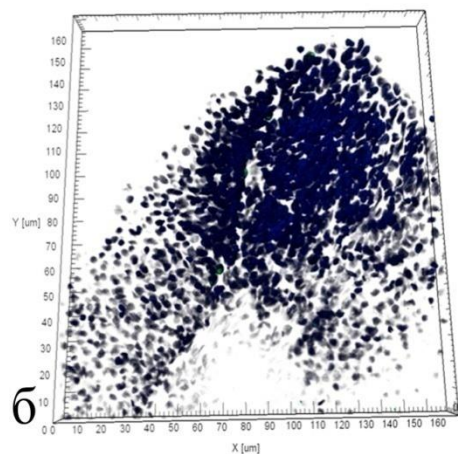
Фрагментированные ядра с конденсированным хроматином (показаны простыми стрелками) и в ольфакторном эпителии у гурями после продолжительного (15 сут) воздействия гетерогенной смеси аминокислот и пептидов.

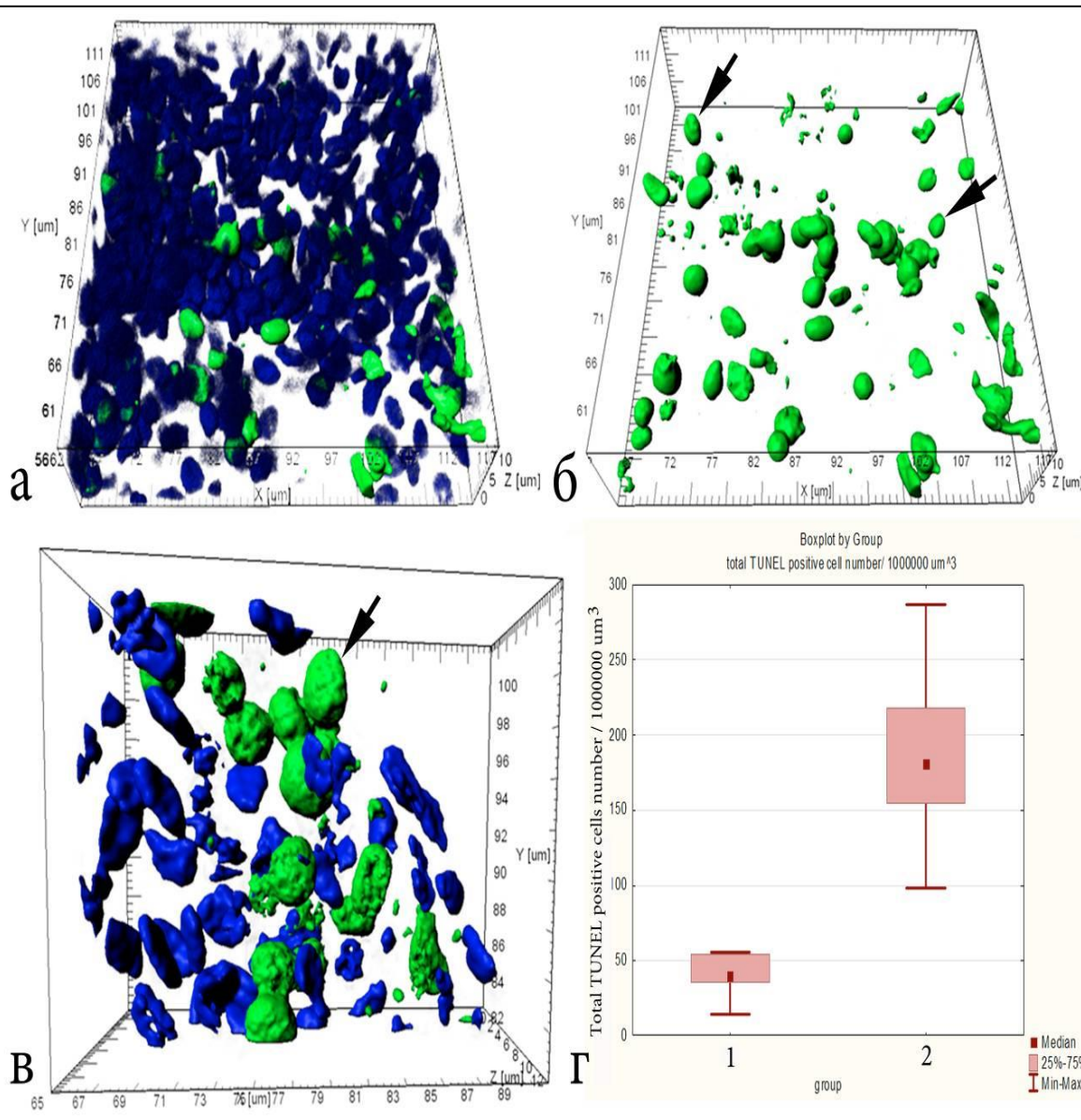
Окраска на ядра (DAPI, синий); конфокальная микроскопия. А, д – 3D-реконструкции; б, в, г – 2D.



Цитохимическое выявление фрагментации ДНК в обонятельном эпителии у гурми в контроле.

Метод Click-iT® TUNEL, погибшие ядра клеток окрашены Alexa Fluor (зеленый); жизнеспособные – Hoechst (синий); конфокальная микроскопия, 3D-реконструкции. А – позитивный контроль (синий и зеленый каналы);

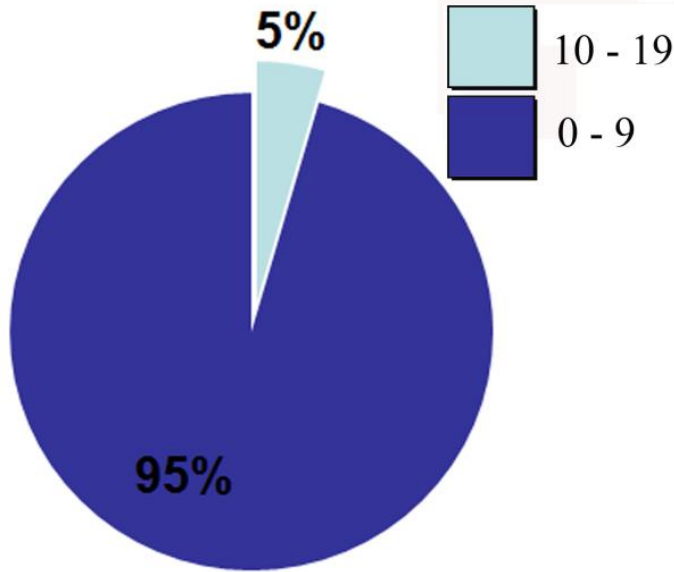




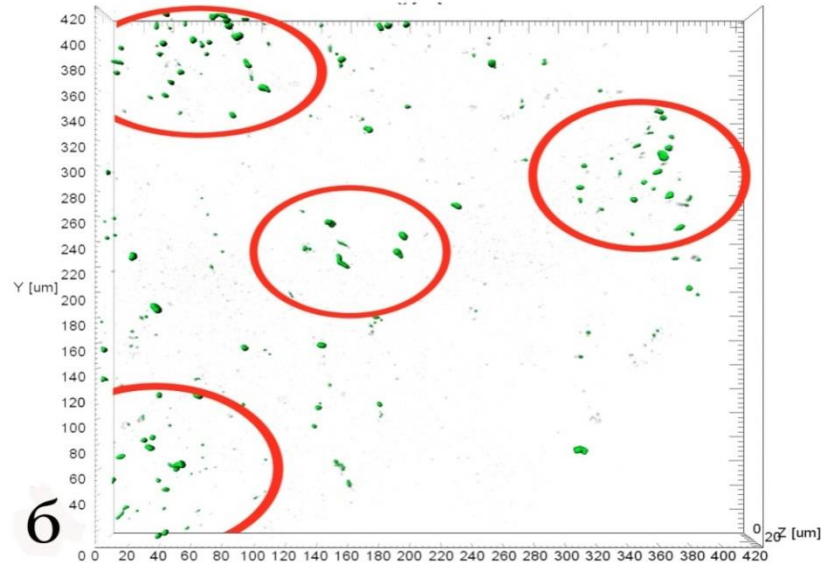
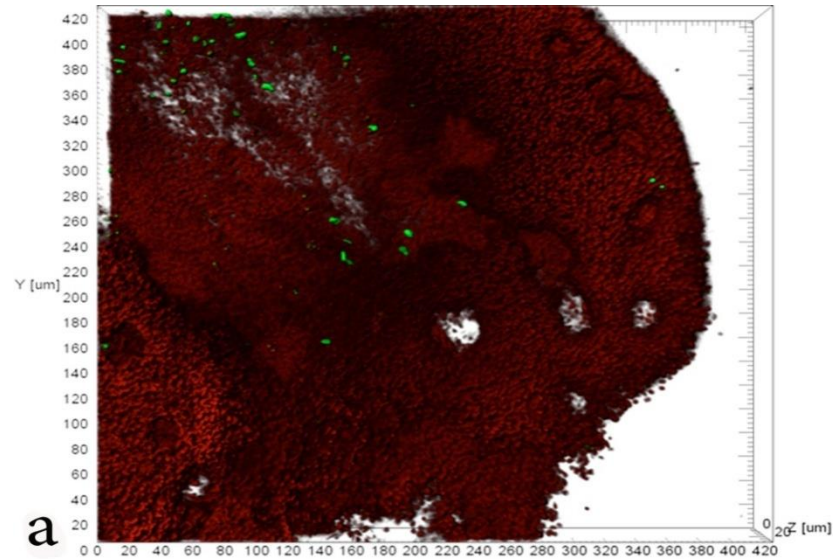
Повышенная одорантная нагрузка на обоняние сопровождается увеличением (в 4,5 раза) числа ядер с фрагментацией ДНК

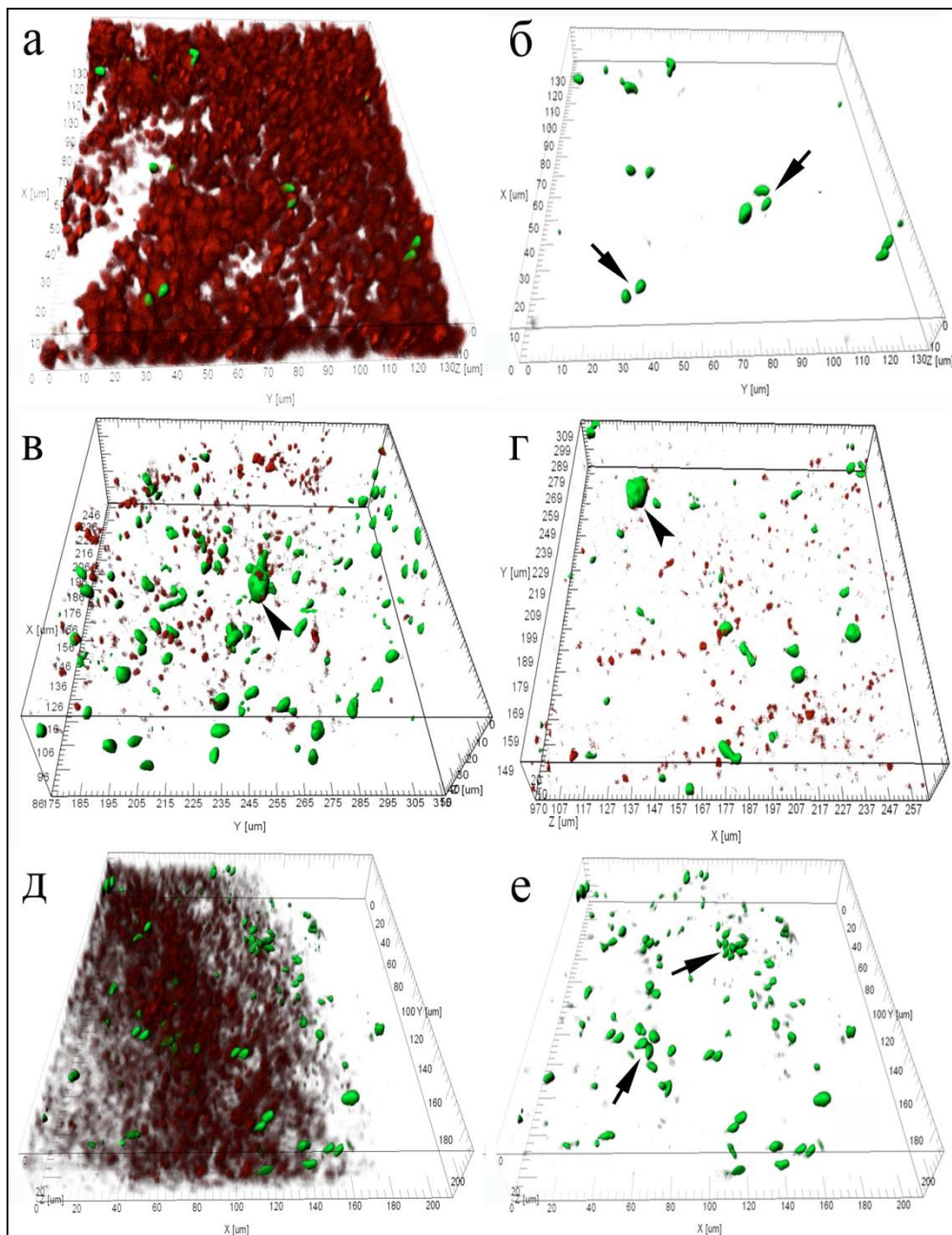
Метод Click-iT® TUNEL; погibшие ядра клеток окрашены Alexa Fluor (зеленый); жизнеспособные – Hoechst (синий); 3D-реконструкции, конфокальная микроскопия. Г – Сравнительная оценка количества погибших ядер в контроле (1) и в эксперименте (2). Диаграммы построены по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия). * $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем.

КОМПЕНСАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ ЭПИТЕЛИЯ ПОСЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕТОКСИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ АГЕНТОВ



Пролиферативная активность клеток в обонятельном эпителии у гурями в контроле (12 ч инкубации BrdU).





Активация процессов нейрогенеза в ольфакторном эпителии у рыб после продолжительной одорантной стимуляции (12 ч инкубации BrdU).

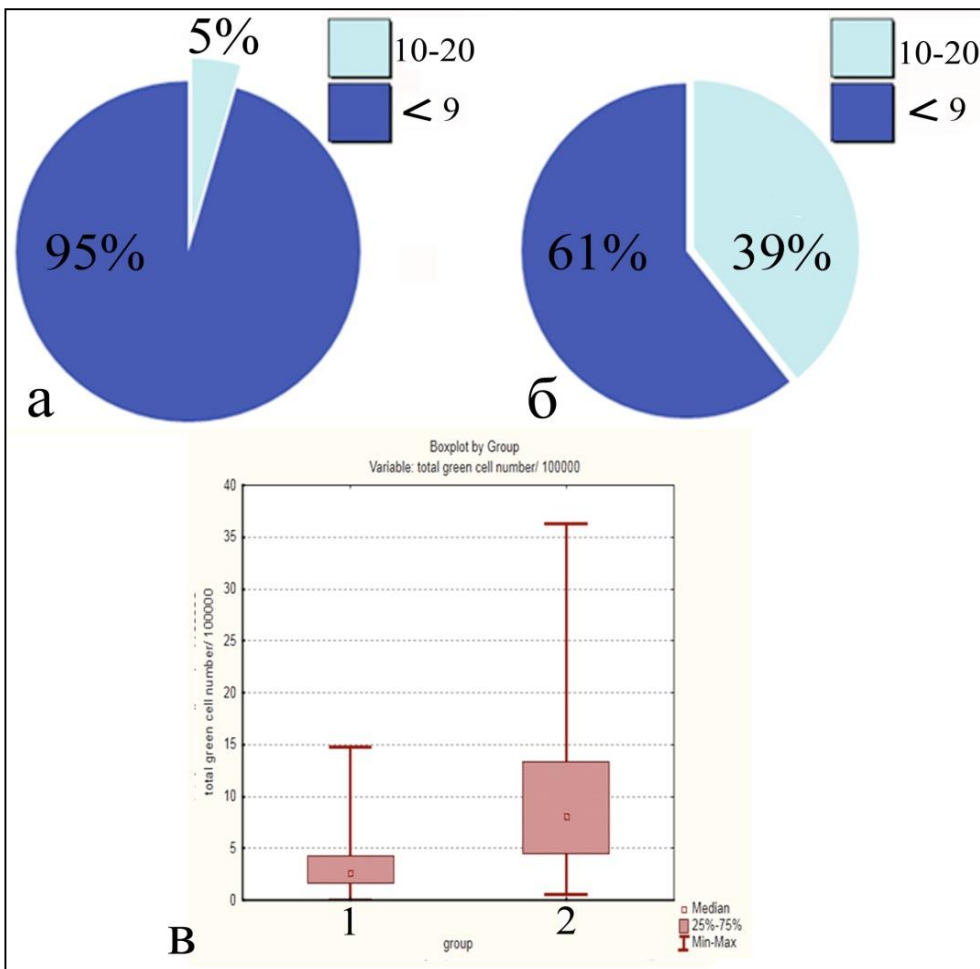
А, б – мелкие кластеры из клеток, включивших метку в базальных отделах эпителия;
 в – е – большое число делящихся клеток с более крупными кластерами клеток (показаны стрелками).
 Фигурными стрелками отмечены образования, состоящие из нескольких, недавно разделившихся клеток.

Избирательная окраска ядер клеток с помощью антител, меченых FITC к бромдезоксипуридину (зеленый). Неделющиеся ядра клеток окрашены 7-аминоактиномицином (красный); конфокальная микроскопия; 3D-реконструкции. А, в, г – в красном и зеленом каналах; б – в зеленом канале.

Сравнительная оценка процессов нейрогенеза в обонятельной розетке у гурми в контроле (а) и после длительной хемотимуляции смесью аминокислот и пептидов (б).

В – график, отражающий усиление нейрогенеза (в 3,4 раза):

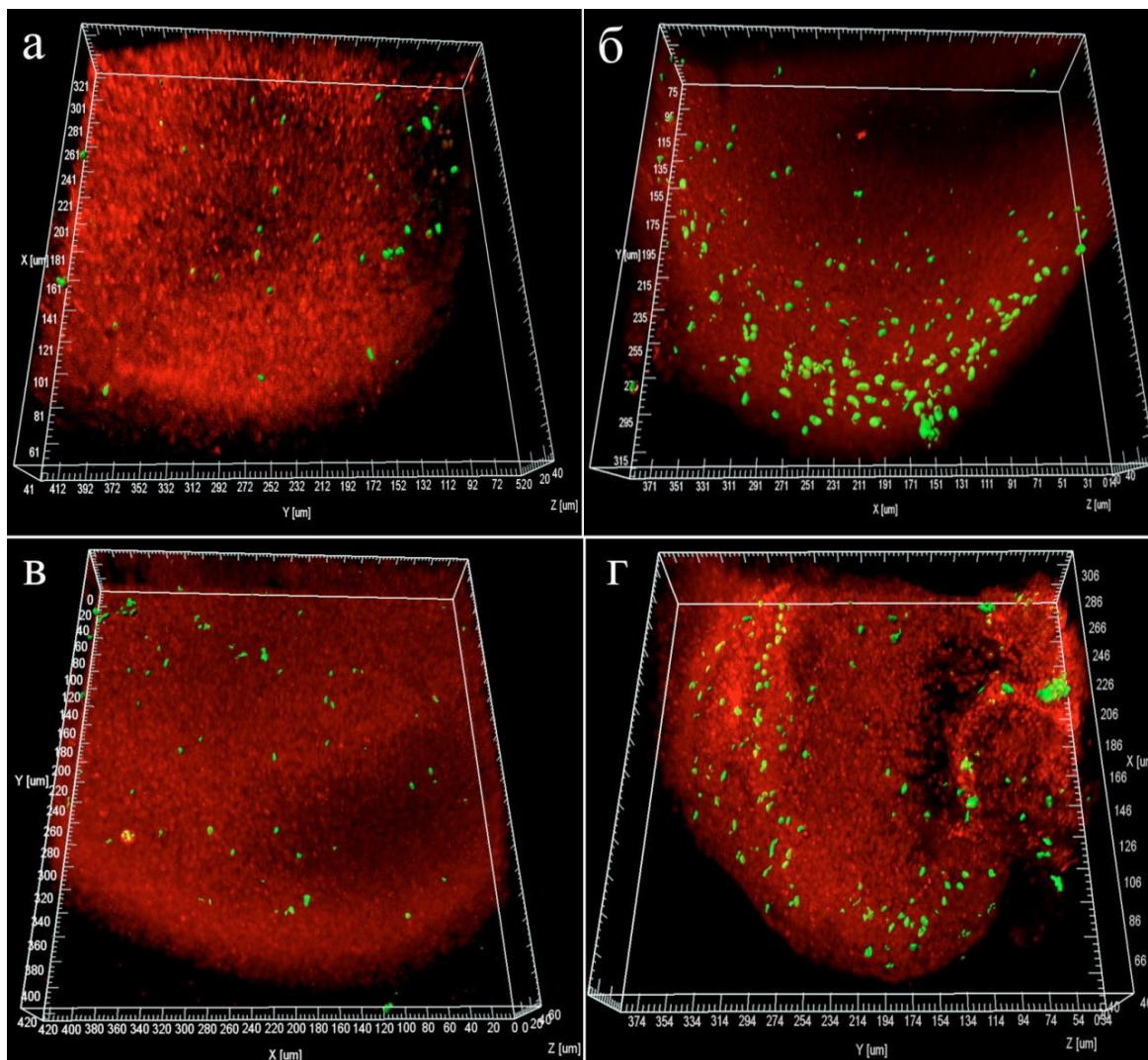
1 – контроль; 2 – эксперимент ;
 график построен по данным количественного анализа Z-стеков (конфокальная микроскопия).
 * $p_u \leq 0,05$ в сравнении с контролем.



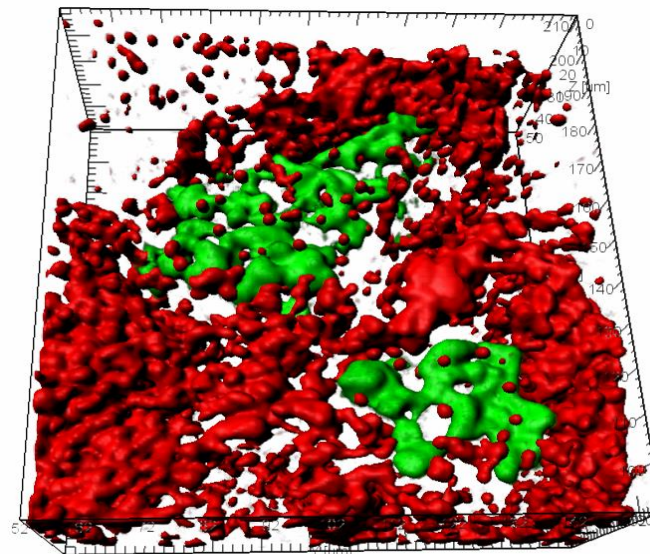
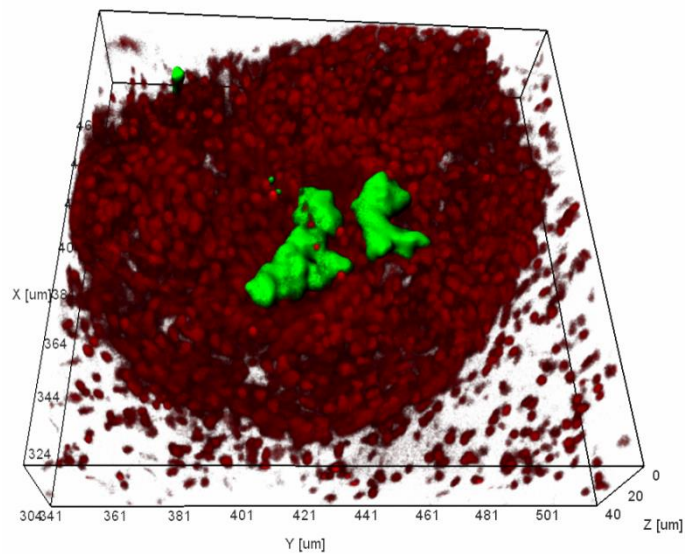
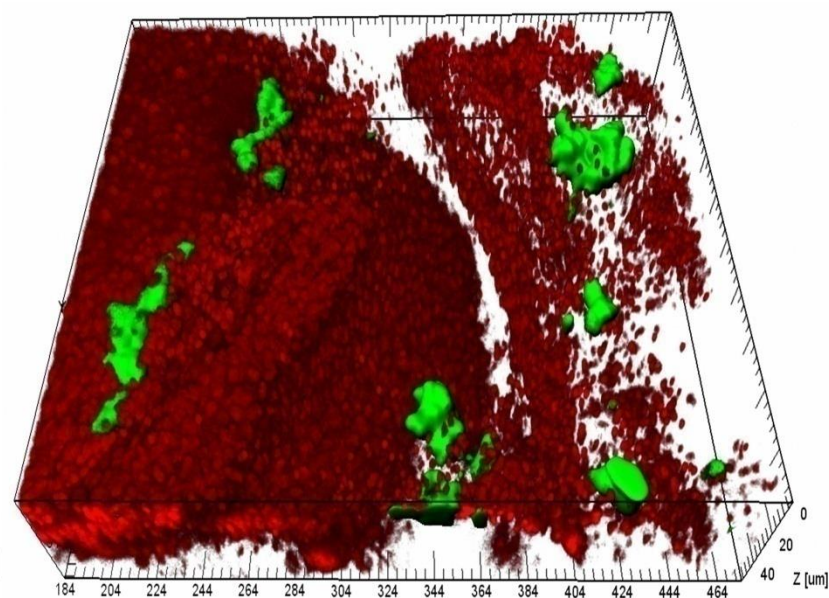
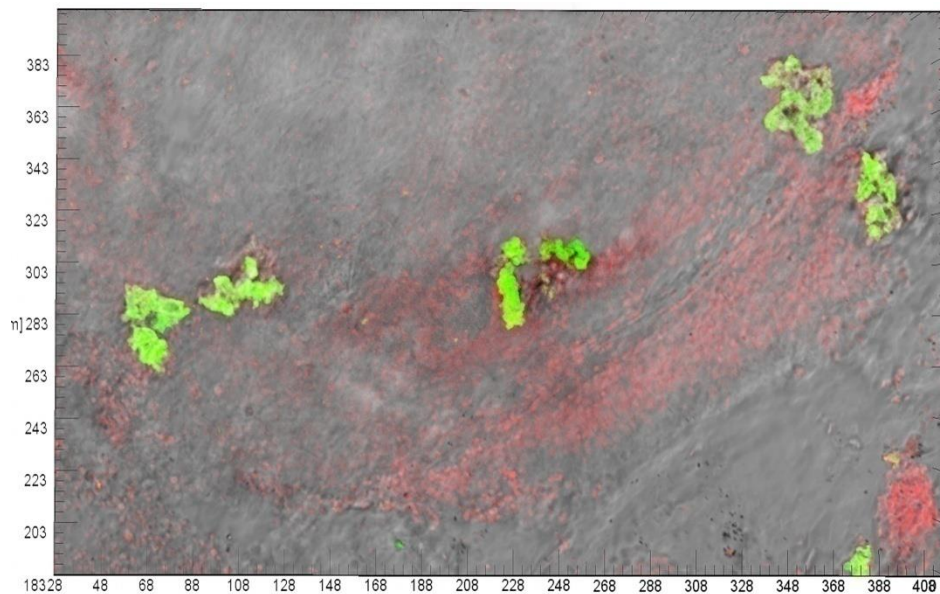
(12 ч инкубации BrdU).

Избирательная окраска ядер митотически активных клеток с помощью антител, меченых FITC к бромдезоксипуридину (зеленый). Неделящиеся ядра клеток окрашены 7-аминоактиномицином (красный); конфокальная микроскопия; 3D-реконструкции.

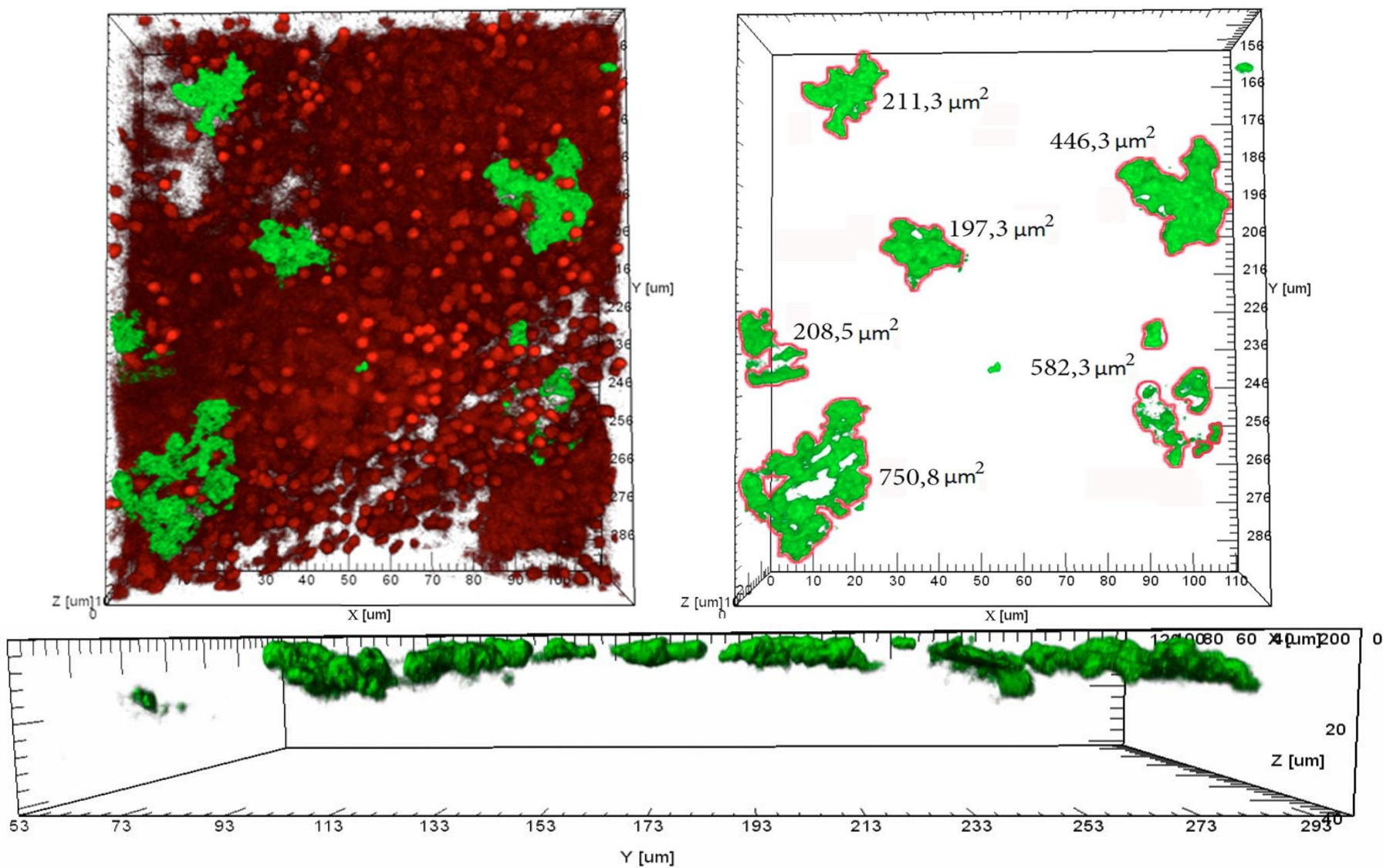
Нейрогенез может быть активизирован не только после аксотомии обонятельного нерва, механических, или острых токсических воздействий, но и после усиленных режимов стимуляции нетоксичными запаховыми стимулами.

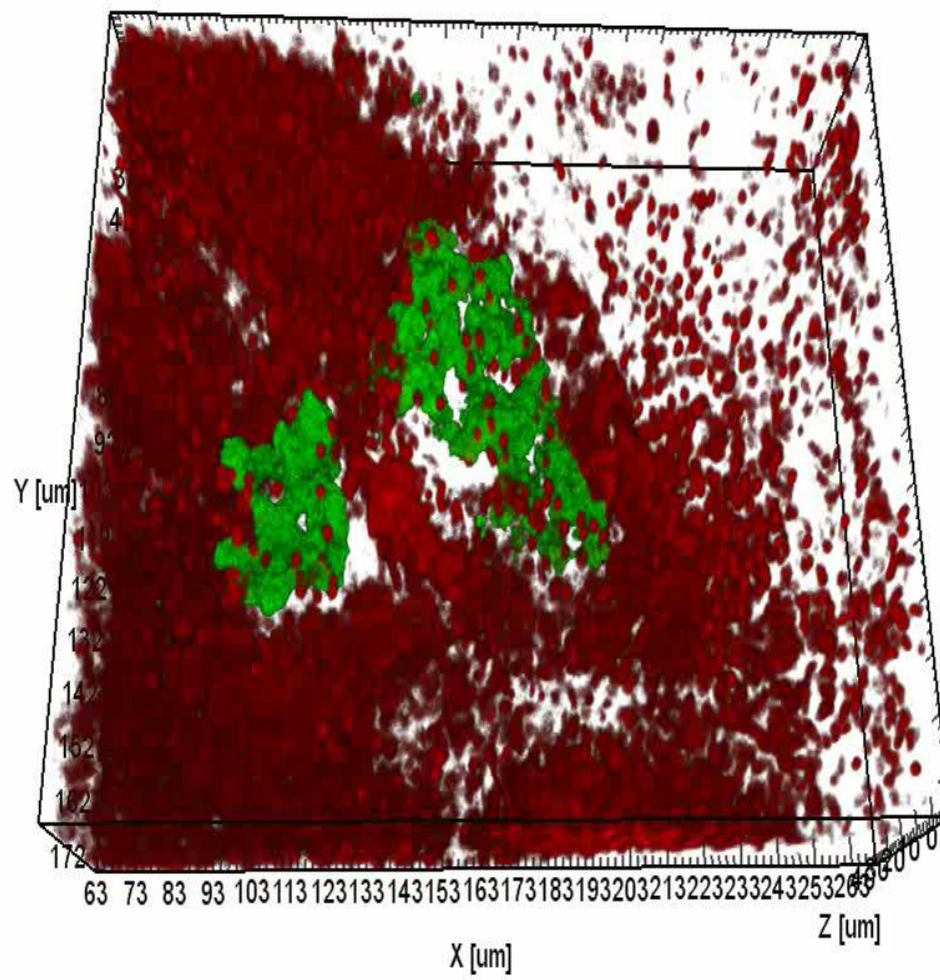


**Естественная пролиферативная активность (36 ч инкубации BrdU).
Формирование крупных кластеров из новообразованных клеток.**

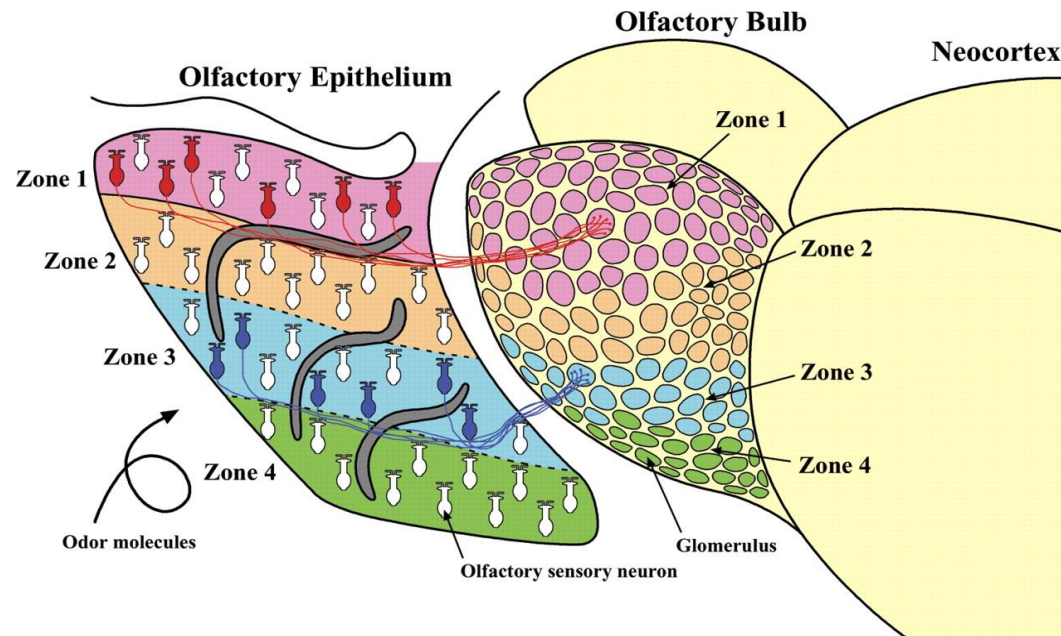


Мозаичное распределение кластеров, состоящих из клеток, включивших BrdU.

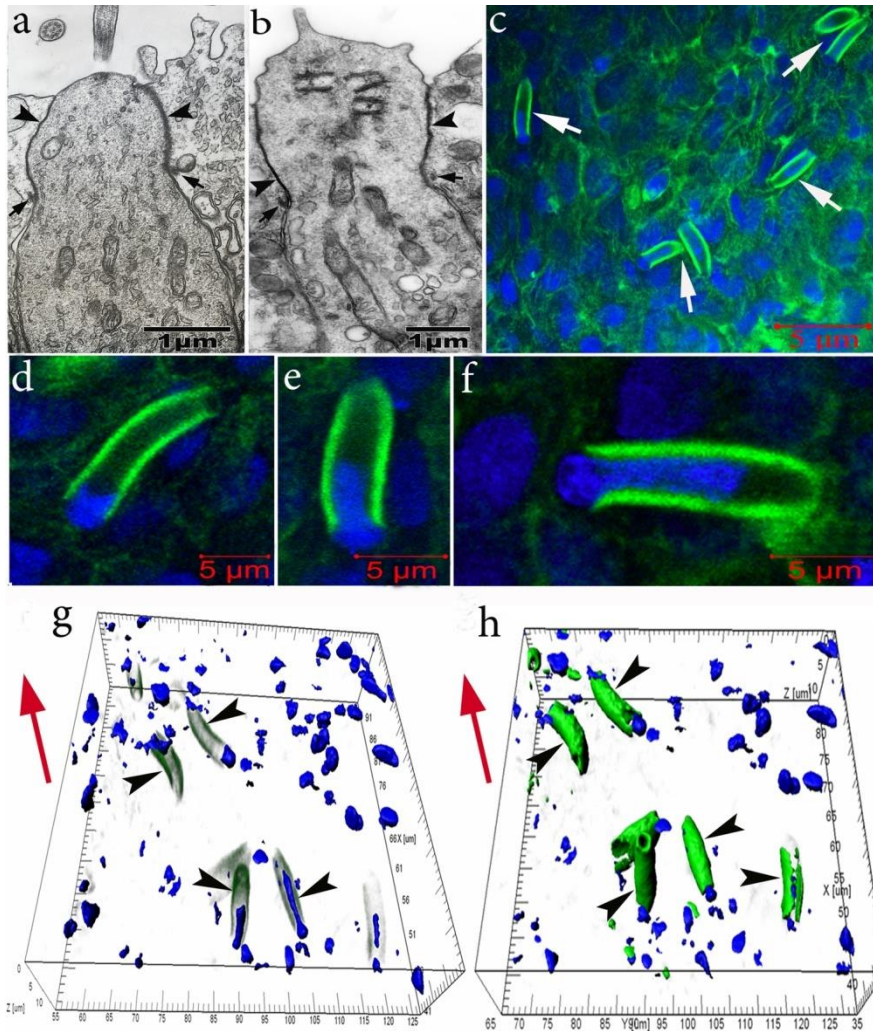




Структурированность процессов обработки сенсорной информации о запахах у млекопитающих (1993; Buck, 1996; Mori, Yoshihara, 1995; Mombaerts et al., 1996; Mori et al., 2006), у насекомых (Vosshall et al., 1999) и у рыб (Thommesen, 1982; Weth et al., 1996)



В ходе нейрогенеза в обонятельном эпителии рыб формируются пространственно разграниченные участки, которые состоят только из новообразованных клеток, которые могут стабильно функционировать в качестве отдельных структурно-функциональных единиц.

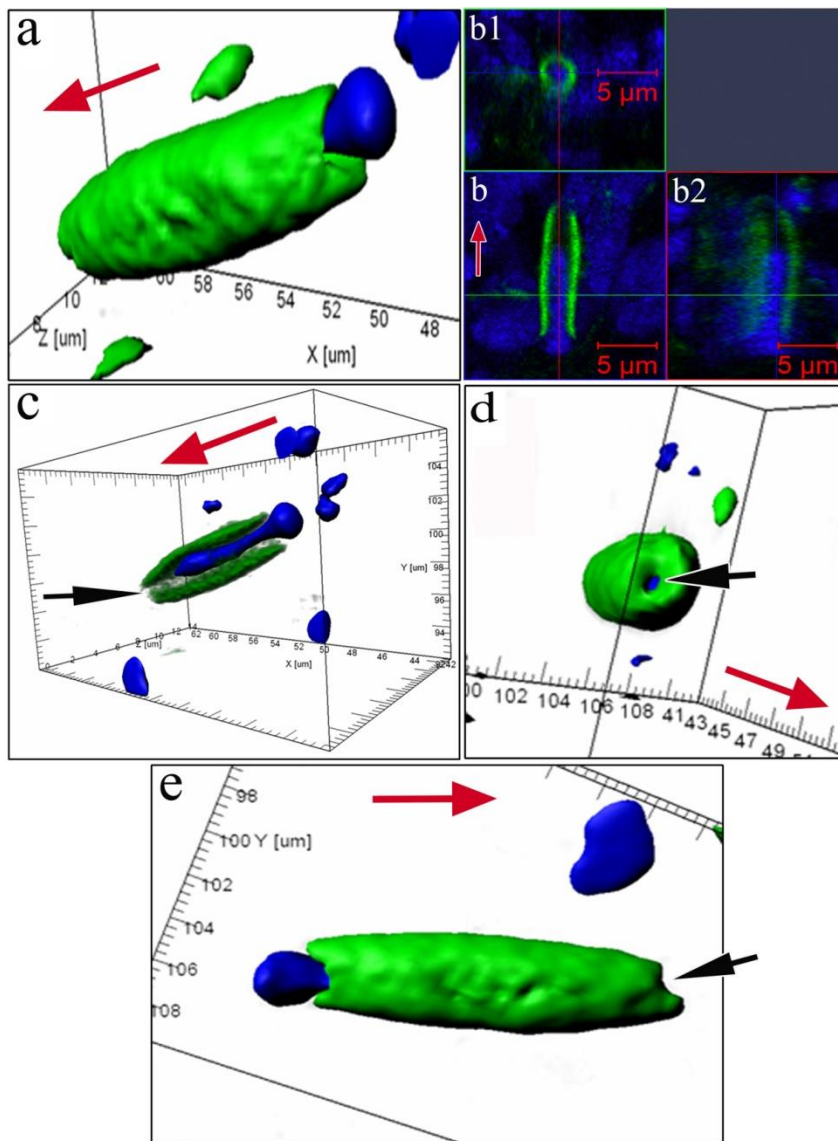


ФАЗЫ РАЗВИТИЯ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ НЕРОНОВ: МИГРАЦИЯ КЛЕТОК ОТ БАЗАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ К ПОВЕРХНОСТИ ЭПИТЕЛИЯ.

Обонятельный эпителий
длиннокрылой широколобки.
Дендриты развивающихся
рецепторных клеток с высоким
содержанием примембранного
актина (простые стрелки).

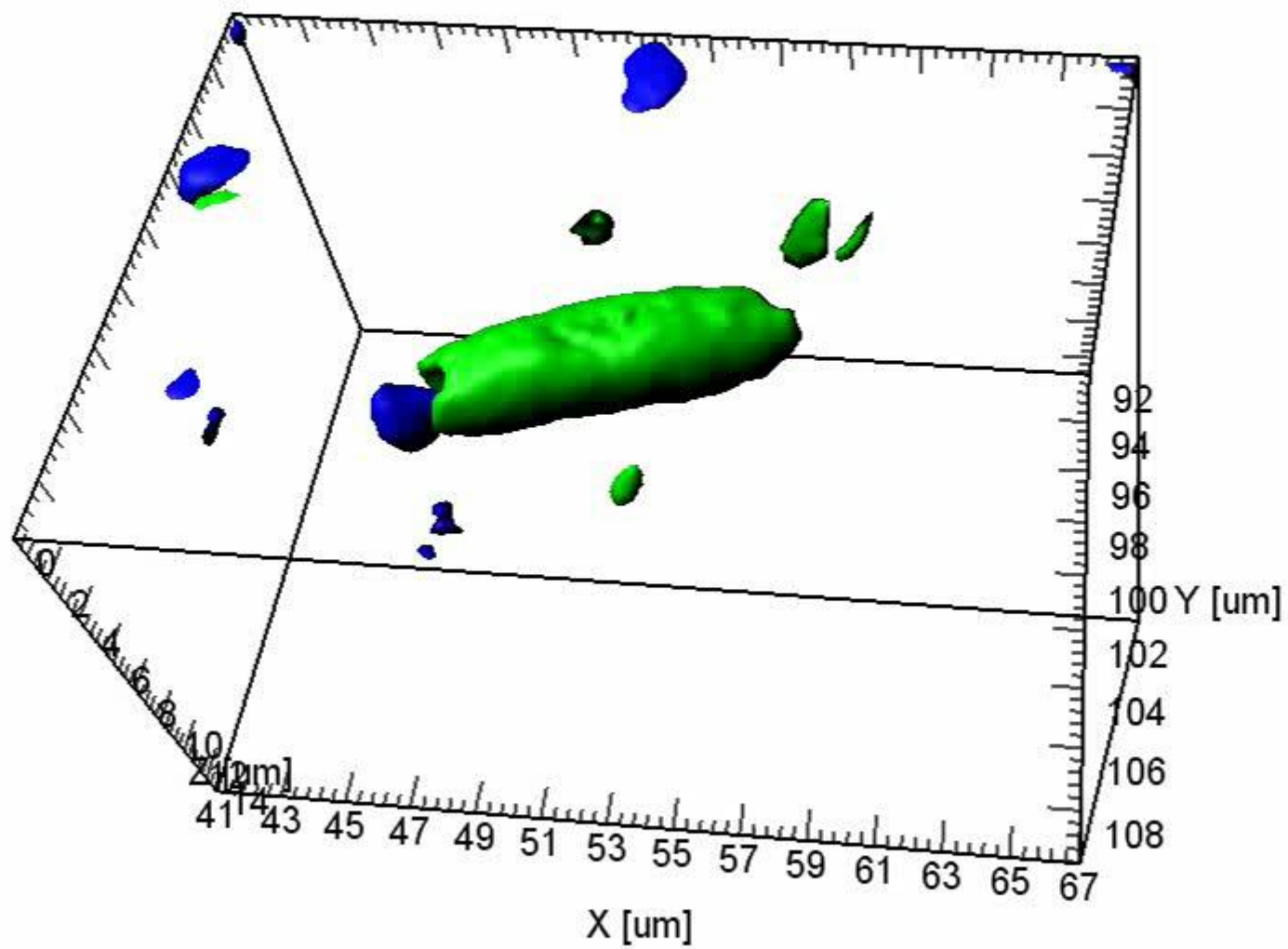
Ядерный материал (фигурные стрелки)
в разной степени погружен во
внутреннее пространство дендрита.

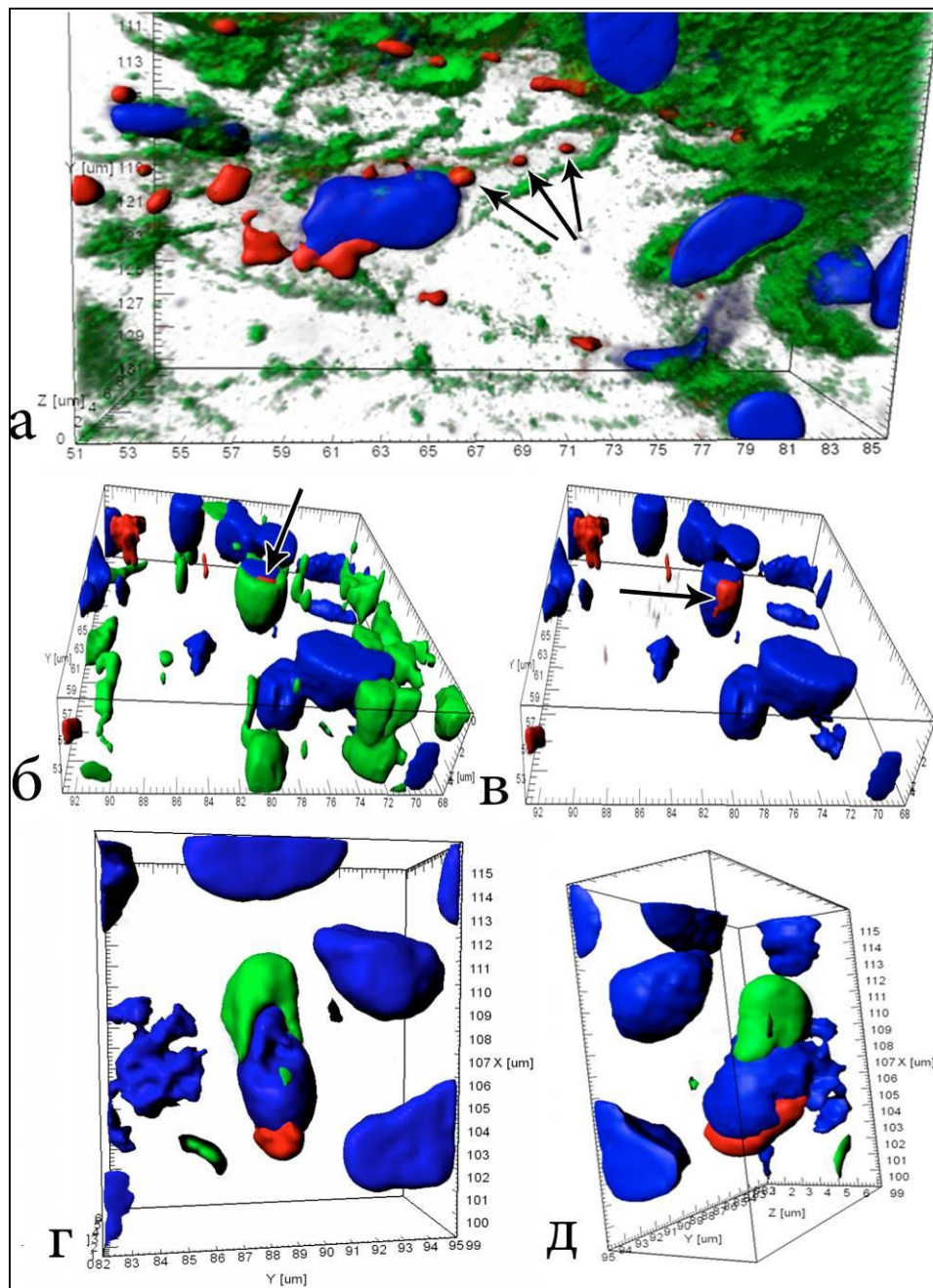
Окраска на актин (фаллоидин,
меченый FITC, зеленый) и
ядра (DAPI, синий);
конфокальная микроскопия.



Специфическая организация актиновых микрофиламентов в молодом нейроне в процессе его дифференцировки и миграции в обонятельном эпителии у длиннокрылой широколобки.

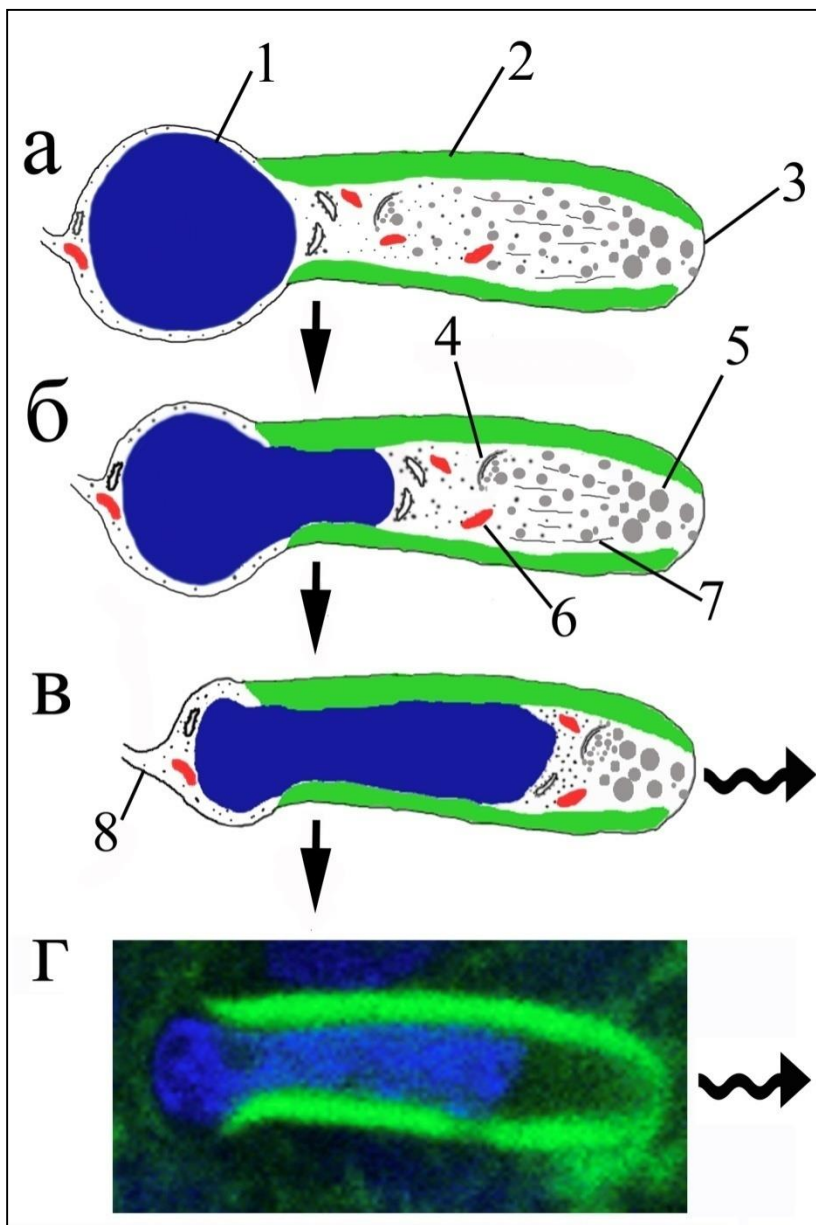
Окраска на актин (фаллоидин, меченый FITC, зеленый) и ядра (DAPI, синий); конфокальная микроскопия.





Приядерная зона молодых клеток с растущими дендритами, обогащенной большим количеством актиновых микрофиламентов в обонятельном эпителии у длиннокрылой широколобки;

Окраска на актин (фаллоидин, меченый FITC, зеленый), ядра (DAPI, синий) и митохондрии (MitoTracker® Orange, красный); конфокальная микроскопия.

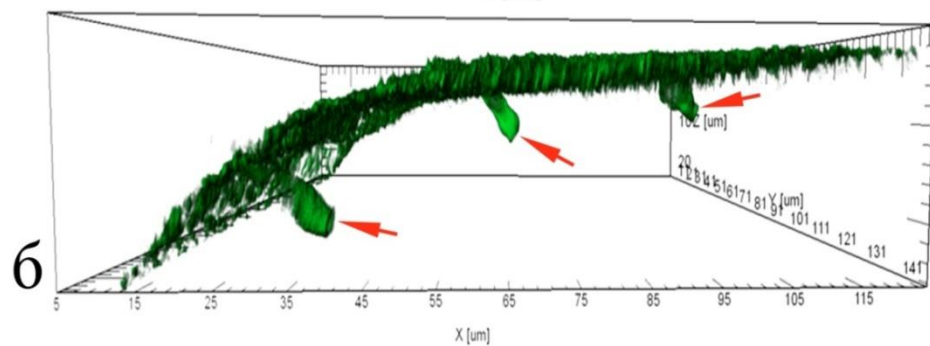
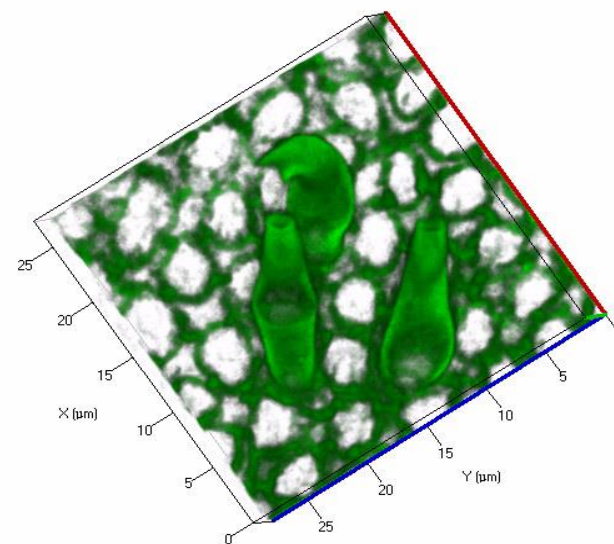
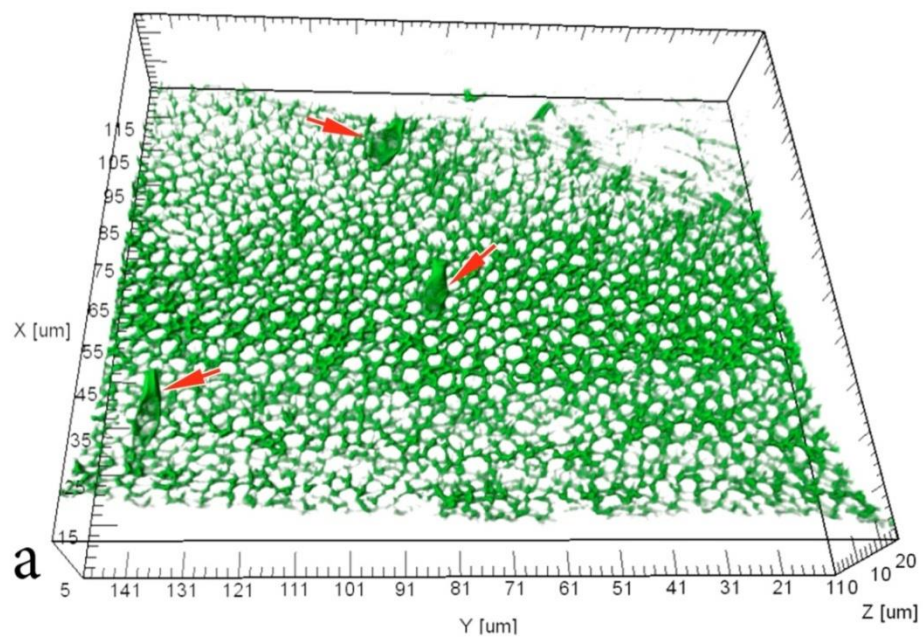


Обобщенная схема структурных перестроек молодых рецепторных нейронов, необходимых для их транспорта в толще обонятельного эпителия.

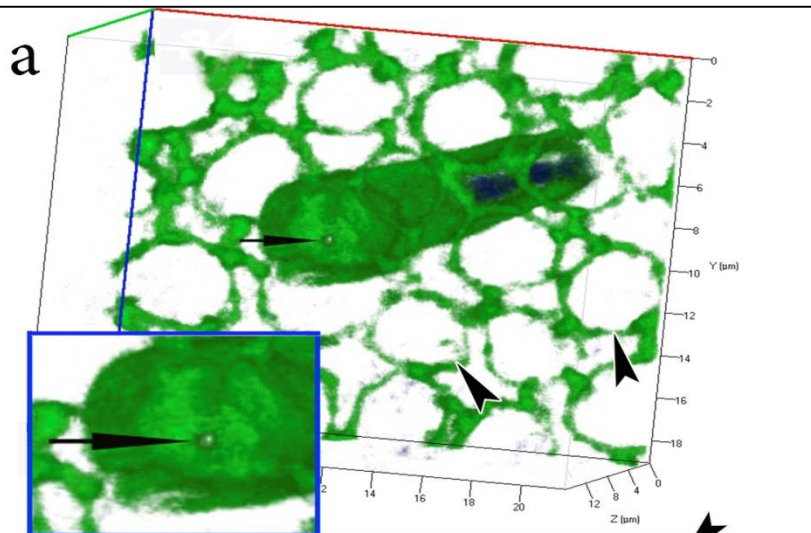
Обозначения: 1 – ядро; 2 – слой актиновых микрофиламентов; 3 – конус роста; 4 – аппарат Гольджи; 5 – секреторные пузырьки; 6 – митохондрии; 7 – микротрубочки; 8 – центральный отросток.

10 мкм

ВСТРАИВАНИЕ МОЛОДЫХ РЕЦЕПТОРНЫХ КЛЕТОК В ПОВЕРХНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ



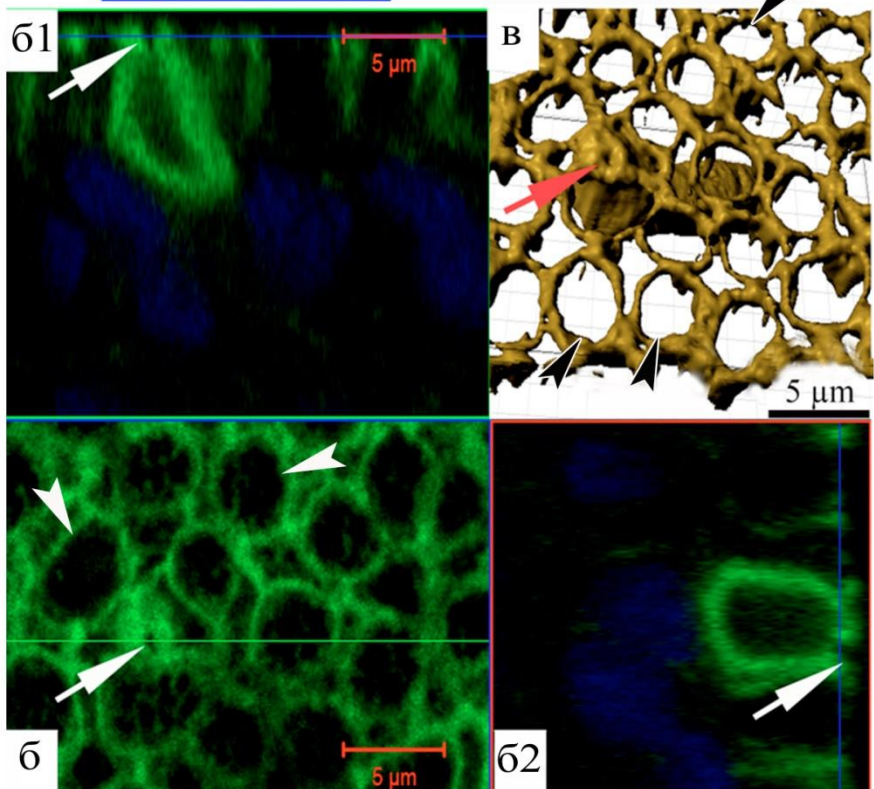
Окраска на актин (фаллоидин, меченый FITC, зеленый)



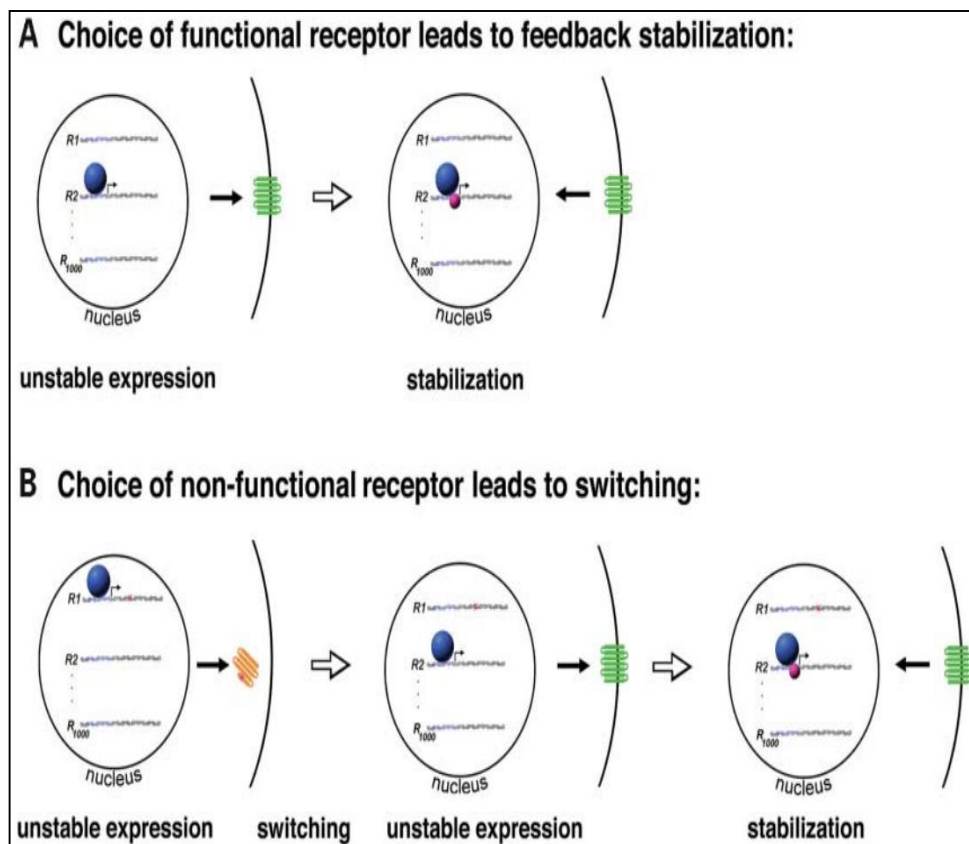
Молодой рецепторный нейрон с порой (показана стрелкой) в актиновом кортексе у длиннокрылой широколобки.

Окраска на актин (фаллоидин, меченый FITC, зеленый) и ядерный материал (DAPI, синий), конфокальная микроскопия.

А – нейрон прикреплен к ячейкам плотных контактов эпителия; вставка – увеличенный фрагмент актинового кортекса с порой; (3D-реконструкция); профиль поверхности (б1) и ортогональных проекций (б1, б2) поры; в – 3D-реконструкция (режим "surface") клетки с порой. Крупные ячейки, образованные актиновыми филаментами, принадлежат вершинам опорных клеток (фигурные стрелки).



Модель выбора функционального обонятельного рецептора (по В. М. Shykind, 2005).

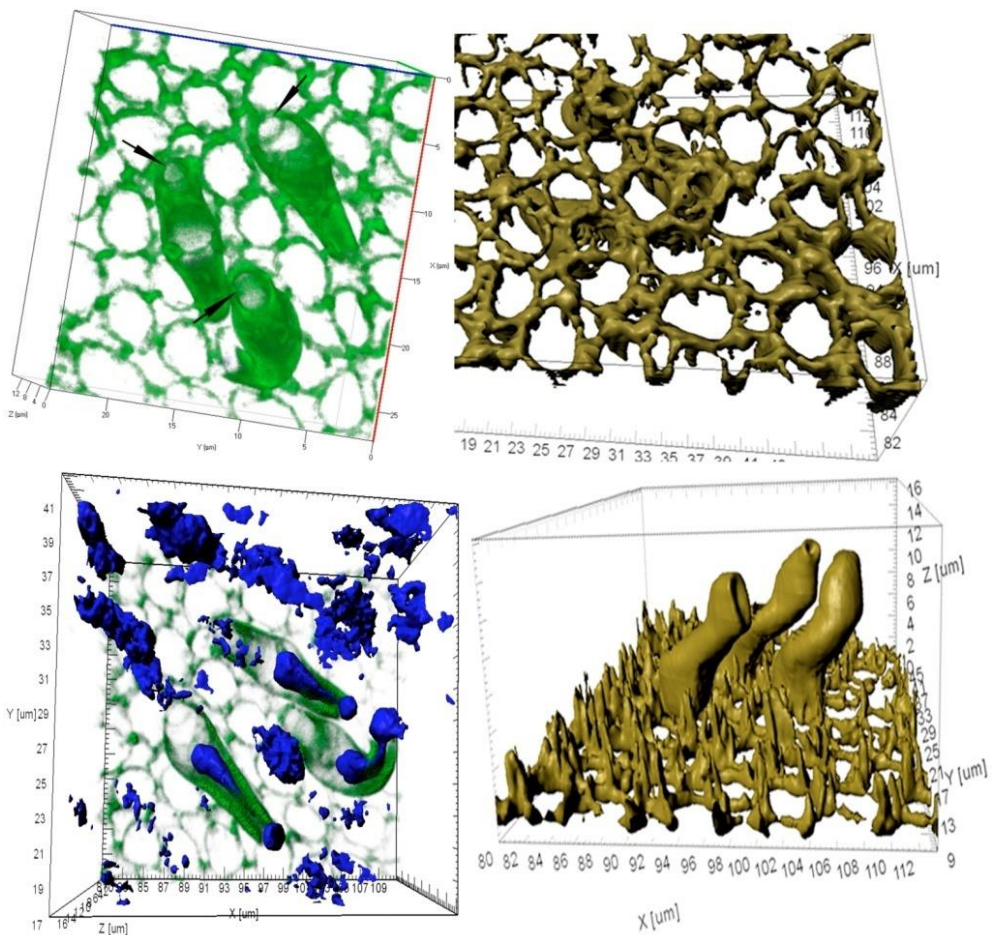
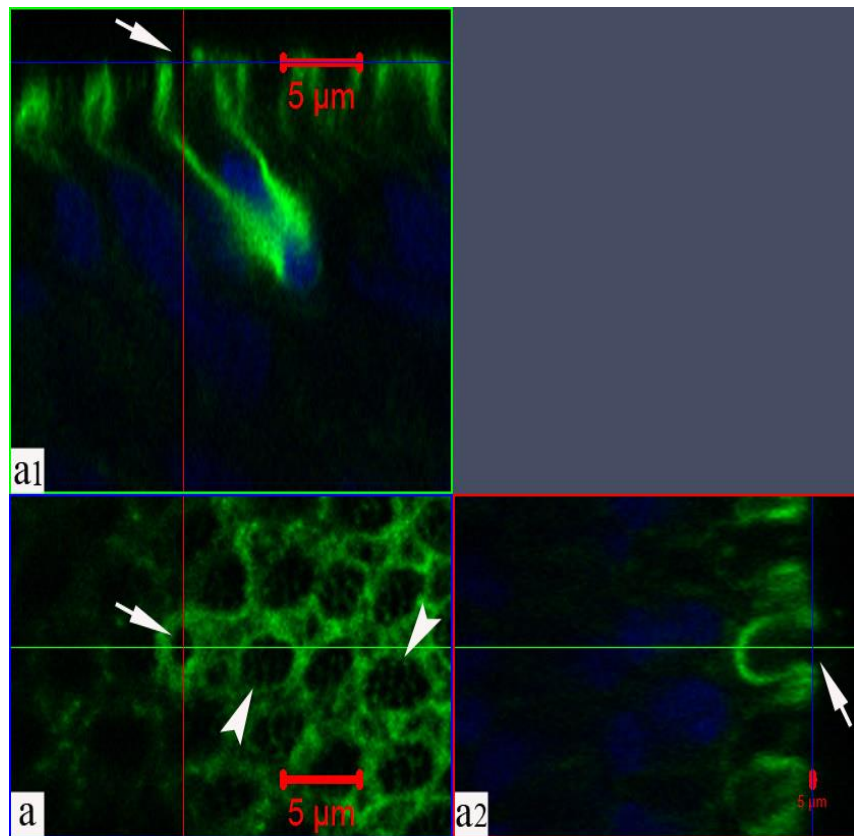


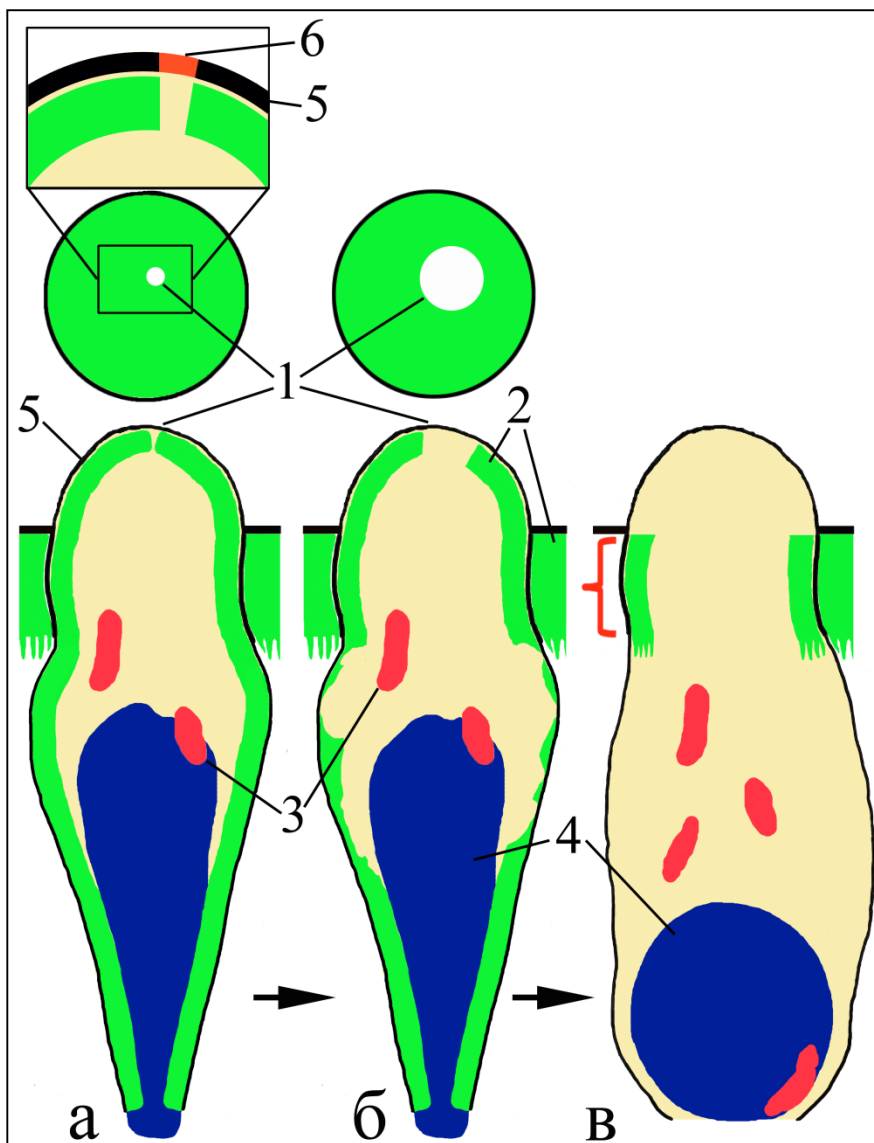
А – отбор функционального рецептора ведет к его стабилизации через механизм обратной связи.
 В – нефункциональный ген выбирается с помощью стохастического механизма (синяя сфера), при котором не обеспечивается стабилизация неработающего рецепторного белка (желтый), он отключается и процесс отбора продолжается пока функциональный рецептор не будет выбран.

Выбор и закрепление генов инициируется сигналом обратной связи, который исходит от функционального рецептора (Shykind *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2014; Sharma, *et al.*, 2017)

Предполагается, что через пору может проходить первый внутриклеточный сигнал от водорастворимых одорантов внешней среды в результате чего в клетке происходит стабилизация экспрессии выбранных обонятельных рецепторов. Klimentov *et al.*, (2018). Scientific reports. V. 8, №. 3692. P. 1-12.

Заключительный этап морфологической дифференцировки нейрона: деструкция актиновых микрофиламентов в обонятельной булавке





Фазы развития обонятельных нейронов после их встраивания в поверхность эпителия.

А, б – ранние стадии дифференцировки рецепторных клеток; в – зрелая клетка (по данным конфокальной микроскопии).

Обозначения: 1 – пора; 2 – актин; 3 – митохондрии; 4 – ядро; 5 – поверхностная мембрана; 6 – участок поверхностной мембраны над порой.

АДАПТИВНЫЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЛУХОВОГО САККУЛЯРНОГО АППАРАТА У ПРИБРЕЖНЫХ И ПЕЛАГИЧЕСКИХ РЫБ ОЗЕРА БАЙКАЛ

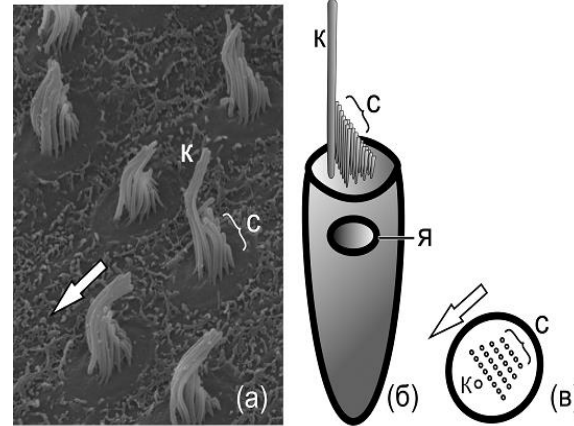
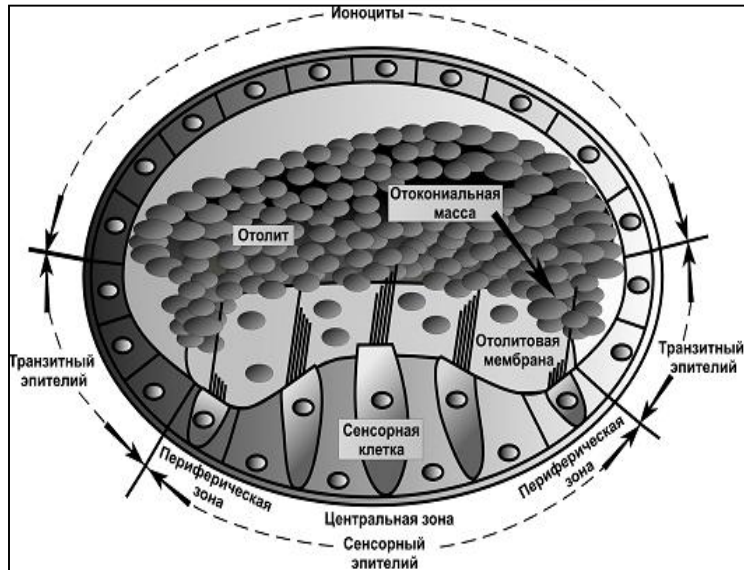
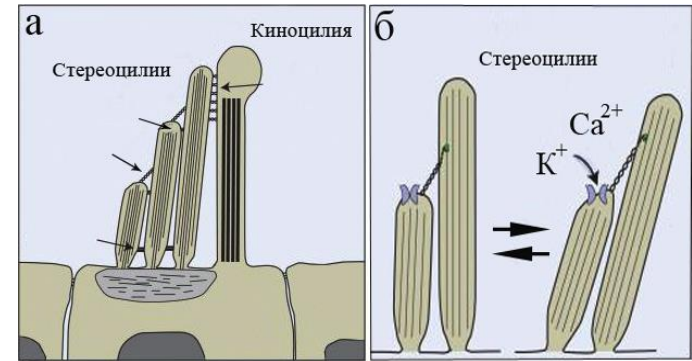
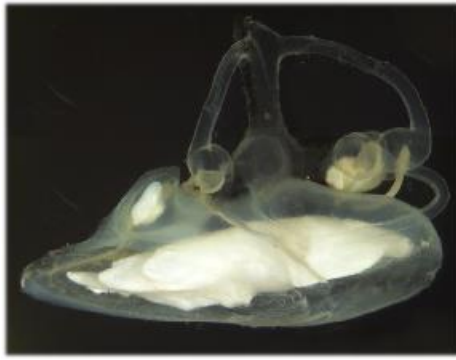
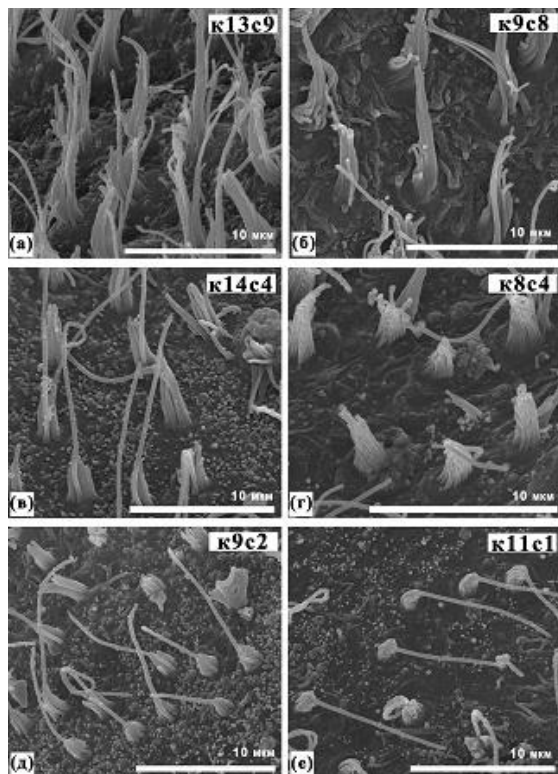
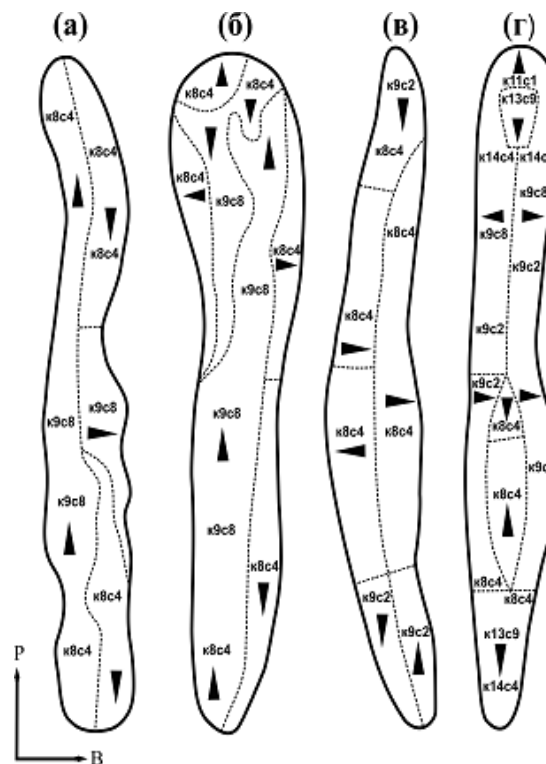


Схема расположения волосковых клеток разного типа в саккулярной макуле с отолитом у байкальских рогатковидных рыб.

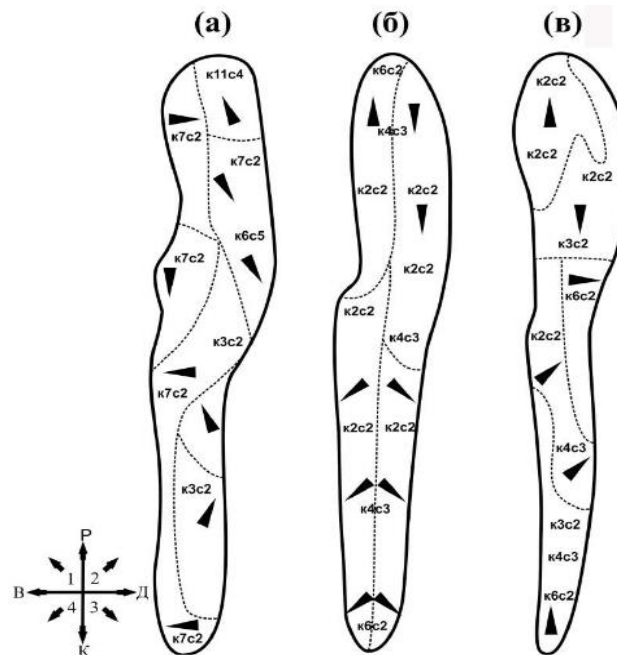
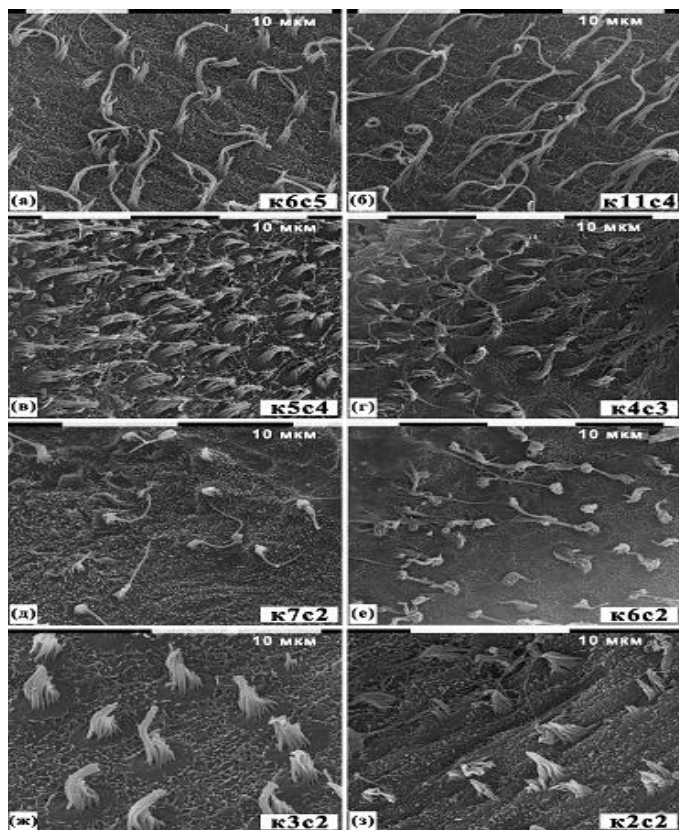
Морфологическая поляризация сенсорных клеток. А - участок саккулярной макулы с одинаковым вектором поляризации волосковых клеток, б, в - схема расположения киноцилии и стереоцилий на апикальной поверхности клетки.



Волосковые клетки с разной длиной стереоцилий и киноцилии в саккулярной макуле у каменной широколобки: (а) к13с9, (б) к9с8, (в) к14с4, (г) к8с4, (д) к9с2, (е) к11с1. К – средняя длина киноцилии, мкм; с – средняя длина максимальной стереоцилии, мкм, (сканирующая микроскопия)

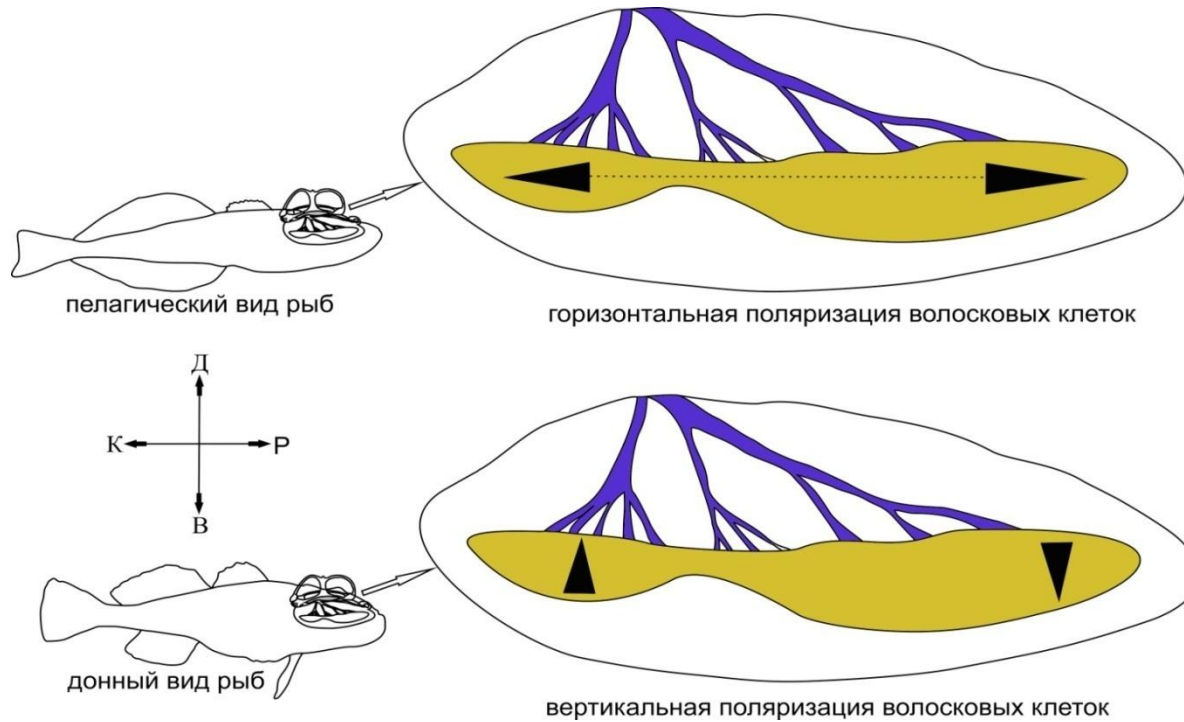


Горизонтальная морфологическая поляризация волосковых клеток в саккулярной макуле у пелагических большой голомянки и малой голомянки (а, б). Вертикальная поляризация у прибрежных северобайкальской желтокрылки и каменной широколобки (в, г).

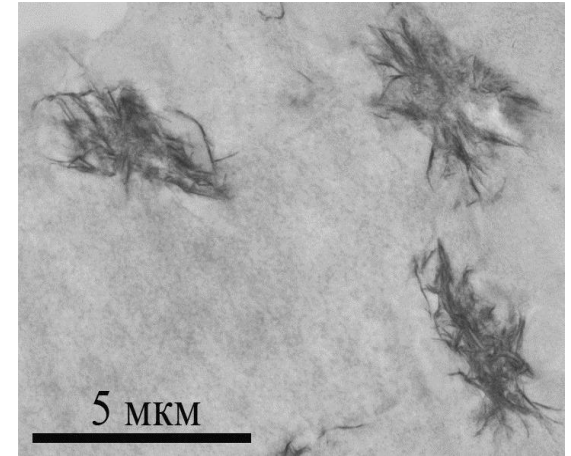
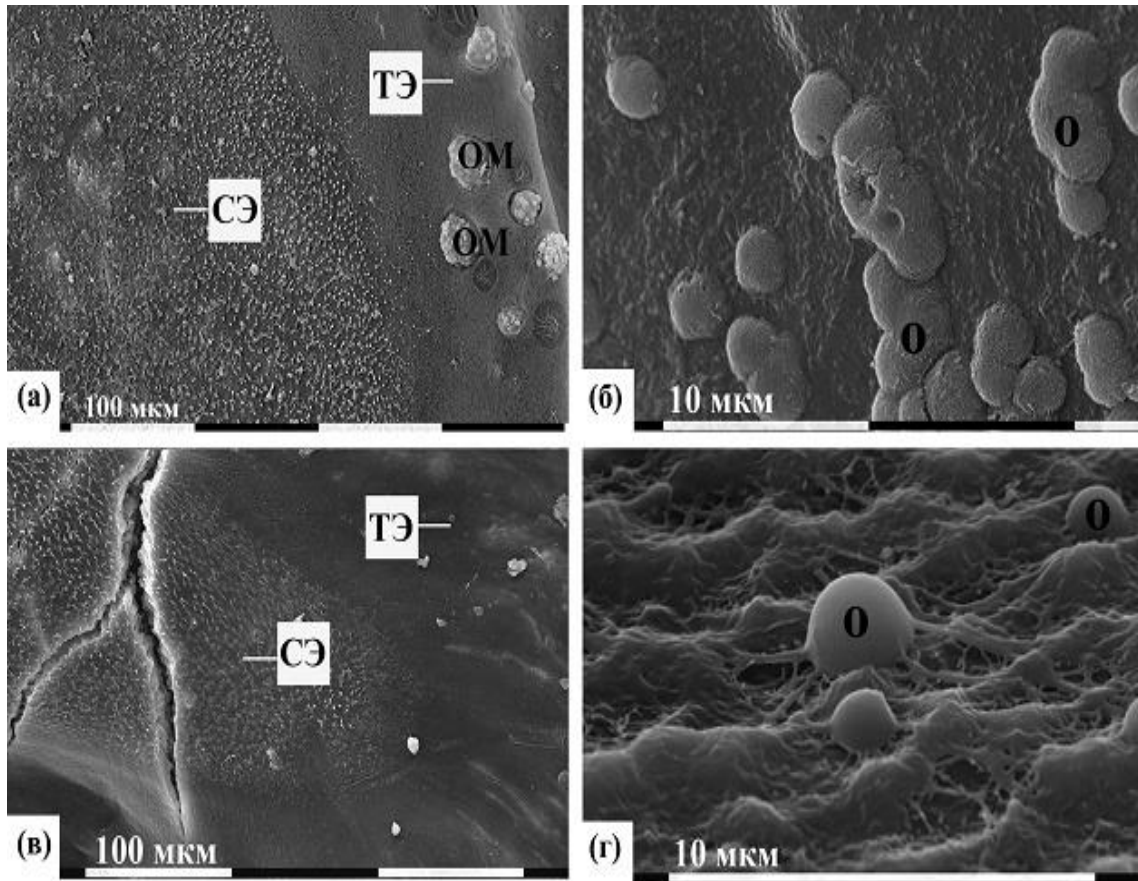


Горизонтальное направление поляризации волосковых клеток в сакулярной макуле у омуля (а), сига-пыжьяна (б), и сига (в). Направления поляризации сенсорных клеток: в — вентральное, д — дорсальное, р — роstralьное, к — каудальное.

Волосковые клетки с разной длиной стереоцилий и киноцилии в сакулярной макуле у сиговых рыб: (а) к6с5, (б) к11с4, (в) к5с4, (г) к4с3, (д) к7с2, (е) к6с2, (ж) к3с2, (з) к2с2, где к — средняя длина киноцилии, мкм; с — средняя длина максимальной стереоцилии, мкм, сканирующая микроскопия.

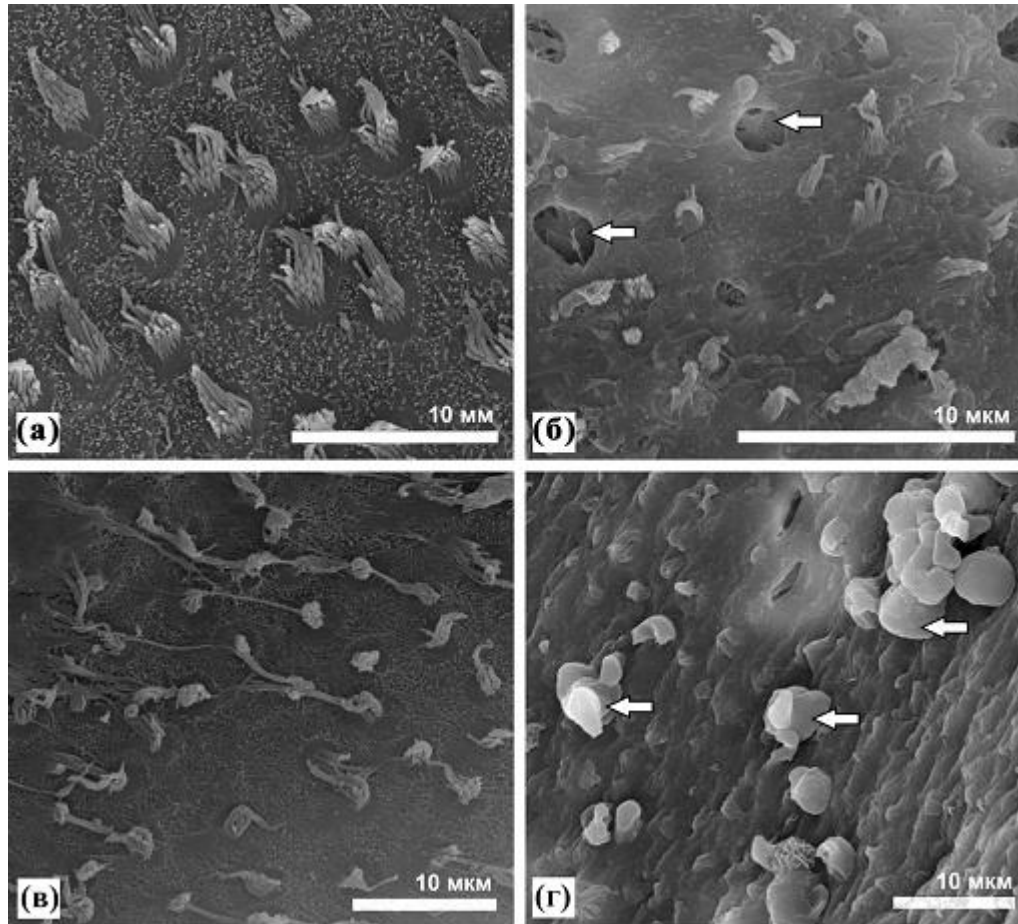


У прибрежных видов рыб выявлено доминирование вертикальной поляризации волосковых клеток, а у пелагических – горизонтальная, что предопределяется особенностями акустических сигналов, характерных для среды их обитания.



**Отоконии в клетках
транзитного эпителия**

Поверхность транзитного саккулярного эпителия, участвующего в секреции и образовании отоконий и отокониальных масс у каменной широколобки (а, б); общий вид и участок транзитного эпителия большой голомянки с отдельными отокониями на апикальной поверхности эпителия (в, г). СЭ – сенсорный эпителий, ТЭ – транзитный эпителий, ОМ – отокониальные массы, О – отоконии.



Саккулярный эпителий гибридов пыжьяна ♀ и байкальского омуля ♂ в контроле (а, в) и после стимуляции интенсивным тональным звуком (3000 Гц) в течение 24 ч (б, г). Деструктивные изменения вершин клеток эпителия показаны стрелками.

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, обеспечивающим 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

морфо-функциональных 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 бенто-пелагических 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 удлинненными стереоцилиями, что способствует наиболее адекватному восприятию низкочастотных акустических сигналов в толще воды.

Благодарности:

Выражаю искреннюю благодарность коллегам, внесшим существенный вклад в эту работу: к.б.н., доценту Н.П. Судакову (ИНЦ хирургии и травматологии, г. Иркутск), к.б.н. М.В. Пастухову (Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск), к.б.н. Ю.П. Сапожниковой, к.б.н. В.М. Яхненко и А.В. Натягановой (ЛИН СО РАН, г. Иркутск).

За большую помощь в техническом обеспечении работ выражаю глубокую признательность гл. спец. А.В. Курылеву, гл. спец. А.П. Лопатину, гл. спец. В.Ф. Старостину, гл. спец. В.И. Егорову, вед. инж. М.М. Масленниковой, гл. спец. К.Ю. Арсентьеву (ЛИН СО РАН, г. Иркутск) и гл. спец., к.х.н. В.А. Уманцу (ИНЦ хирургии и травматологии, г. Иркутск).

Слова особой благодарности выражаю моему научному консультанту – д.б.н., профессору Н.С. Косицыну (Институт ВНД и НФ РАН, г. Москва), а также, д.б.н., профессору Т.М. Дмитриевой и д.б.н., профессору Ю.П. Козлову (РУДН, г. Москва), моим учителям, благодаря которым были инициированы работы по изучению сенсорных систем у гидробионтов озера Байкал. За ценные советы, консультации и обеспечение работ выражаю признательность д.б.н., профессору Е.В. Лихошвай и академику М.А. Грачеву (ЛИН СО РАН, г. Иркутск).

Благодарю также коллективы отдела «Ультраструктуры клетки» ЛИН СО РАН и кафедры физико-химической биологии Иркутского государственного университета (зав., д.б.н., профессор В.П. Саловарова) за помощь при проведении исследований и теплую рабочую атмосферу.

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ !