

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И.П. Павлова

На правах рукописи

ПАНОВ

Станислав Александрович

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЖГУТИКОВ

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург 2014

Работа выполнена в лаборатории физиологии и биофизики клетки

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Научный руководитель:

Бигдай Елена Владимировна

доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник, профессор

Официальные оппоненты:

Клименко Виктор Матвеевич

доктор медицинских наук, профессор,
руководитель Физиологического отдела им.
И.П. Павлова ФГБУН Научно-
исследовательский институт
экспериментальной медицины СЗО РАМН

Хотин Михаил Георгиевич

кандидат биологических наук, научный
сотрудник отдела клеточных культур
ФГБУН Институт цитологии РАН

Ведущая организация:

ФГБУН Институт теоретической и
экспериментальной биофизики РАН,
г. Пущино

Защита диссертации состоится «__» _____ 2014 года в __ час
__ мин на заседании Диссертационного Совета Д 002.020.01 при Институте
физиологии им. И.П. Павлова РАН (199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова,
6).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии
им. И.П. Павлова РАН

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета

Доктор биологических наук

Н.Э. Ордян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Большой интерес современной науки к исследованиям обонятельной рецепции связан не только с изучением физиологических проблем обоняния, его роли в поведении и адаптации как животных, так и человека, но также с возможностью решения ряда сложных технических задач и актуальных медицинских проблем.

Важность исследований обонятельной рецепции в области медицины основана на возможности создания сравнительно недорогих методов экспресс-диагностики ряда заболеваний, связанных с цилиопатиями и нейродегенеративными процессами. Так, например, ранняя диагностика таких заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона даёт возможность эффективно лечить, достигая стойкой ремиссии и благодаря этому повышать качество жизни пациентов.

Вместе с тем перед учёными и инженерами стоит проблема создания и повышения чувствительности искусственных химических анализаторов, которые смогут найти применение в различных областях науки и технике. И это тоже требует глубокого проникновения в механизмы обонятельной рецепции, включая двигательную активность обонятельных жгутиков. Заметим, что эти выросты цитоплазмы рецепторных клеток являются хорошей моделью для исследования обонятельной сенсорной системы.

Из-за своеобразных, сложных по траектории движений обонятельных жгутиков не представляется возможным описать их аналогично описанию движений ресничек. Поэтому, основываясь на данных, полученных Е.В. Бигдай [2004], Я.Н. Руденко [2007], В.В. Бекусовой [2008], при исследованиях периферического отдела обонятельного анализатора, мы описали локомоторные изменения обонятельных жгутиков в свете теории гетерогенности хеморецепции, сформулированной в 1970-х годах В.О.Самойловым. Под гетерогенностью хемосенсорных систем понимается неоднородность их происхождения, структуры и функции.

Изучая гетерогенность локомоторных процессов в обонятельных жгутиках, мы предприняли попытку понять участие их двигательной активности в обонятельной рецепции.

Цель работы: исследование гетерогенности локомоторных реакций обонятельных жгутиков (ОЖ) некоторых представителей позвоночных на стимуляцию их различными одорантами.

Для достижения цели решались следующие **задачи:**

1) проанализировать двигательную активность обонятельных жгутиков в ответ на воздействие пахучими веществами, обладающими различными запахами: прогорклым (амиловый спирт), цветочным (ванилин), камфорным (d-камфора), эвкалиптовым (цинеол), гнилостным (β -меркаптэтанол), едким (аммиак);

2) методами прижизненной телевизионной микроскопии высокого разрешения с применением фармакологического анализа изучить роль актин-миозиновой и тубулин-динеиновой молекулярных систем биологической подвижности;

3) посредством математических методов оценить локомоторные реакции обонятельных жгутиков на одоранты;

4) исследовать взаимодействие тубулин-динеиновой и актин-миозиновой систем в осуществлении движений обонятельных жгутиков с позиции теории гетерогенности хемосенсорных систем.

Основные положения, выносимые на защиту:

1) в отсутствие одорантов обонятельным жгутикам присуща неупорядоченная двигательная активность в режиме рыскания, которая обеспечивается тубулин-динеиновой молекулярной системой биологической подвижности;

2) кратковременное упорядочение движений обонятельных жгутиков вне действия пахучих веществ происходит благодаря непродолжительной спонтанной полимеризации актина в дистальном отделе обонятельных жгутиков;

3) процесс рецепции одорантов сопровождается стойким упорядочением двигательной активности обонятельных жгутиков, вследствие образования актиновых филаментов в их дистальных отделах;

4) взаимодействие неупорядоченных и упорядоченных движений жгутиков обонятельных клеток создаёт условия для эффективного влияния подвижности на обонятельную чувствительность;

5) характер изменений подвижности обонятельных жгутиков в процессе обоняния одорантов у лягушек, крыс, кроликов и человека аналогичен.

Научная новизна:

Впервые методом прижизненной телевизионной микроскопии с использованием математических методов объективного анализа было показано, что неупорядоченная двигательная активность обонятельных жгутиков осуществляется за счёт тубулин-динеиновой молекулярной системы биологической подвижности, а процесс упорядочения движения – посредством

актин-миозиновой молекулярной системы подвижности. Доказана гетерогенность локомоторной реакции обонятельных жгутиков, что дополняет представления о гетерогенности обонятельной рецепции. Разработана функциональная модель для прижизненного изучения молекулярных механизмов немышечной подвижности. Установлена возможность применения колхицина для прижизненных исследований двигательной активности немышечных клеток.

Теоретическая и практическая значимость

Работа имеет важное теоретическое и практическое значение для развития физиологии и биофизики хемосенсорных систем. Она расширяет представление об их гетерогенности. Кроме имеющихся в литературе доказательств гетерогенности рецепторных процессов, гетерогенность обоняния проявляется также в разнообразном двигательном ответе обонятельных жгутиков на воздействие различных одорантов.

Разработаны и использованы прижизненные методы изучения немышечных систем подвижности, на основании которых были сделаны выводы о роли молекулярных систем биологической подвижности в двигательной активности обонятельных жгутиков.

Механизмы локомоторных реакций обонятельных жгутиков на одоранты аналогичны механизмам реорганизации цитоскелета у мигрирующих клеток в градиенте концентрации хемоаттрактанта при хемотаксисе.

Показано, что обонятельные жгутики могут использоваться в качестве модели для изучения механизмов немышечной подвижности и имеют ряд преимуществ перед аналогичными моделями.

Результаты диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах физиологии в высших учебных заведениях медицинского и биологического профиля, а также в научном обосновании технического моделирования обоняния (создании «электронного носа»).

На основе полученных в нашей работе данных о двигательной активности обонятельных жгутиков под действием одорантов и вне их воздействия могут быть разработаны новые медицинские технологии для диагностики и лечения заболеваний, которые проявляются в нарушениях подвижности обонятельных жгутиков.

Личный вклад соискателя.

Все представленные в диссертации результаты получены лично автором. Регистрация видеофайлов и статистическая обработка результатов проведены автором лично. Разработка оригинальных компьютерных программ была

осуществлена совместно с научным руководителем и другими соавторами работ.

Апробация работы

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на научно-практических конференциях: итоговые заседания военно-научного общества курсантов и слушателей ВМА им. С.М. Кирова (СПб, 2009, 2011, 2012 гг.); научно-практические конференции с международным участием «НЕДЕЛЯ НАУКИ СПбГПУ» (СПб, 2009, 2010, 2011 гг.); V международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения биологии и медицине» (СПб, 2009), VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 160-летию со дня рождения И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (СПб, 2009 г.), IV международный конгресс «Нейробиотеком-2010» (СПб, 2010г.), XXI съезд физиологов (Калуга, 2010 г.), Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды» (СПб, 2010 г.), Международная научная конференция «Измерительные и информационные технологии в охране здоровья МетроМед» 2011 (СПб, 2011 г.), V международный конгресс «Нейробиотеком-2012» (СПб, 2012 г.).

Результаты работы внедрены в практику работы лаборатории физиологии и биофизики клетки, научного отдела физиологии сенсорных систем Института физиологии им. И.П. Павлова Российской Академии Наук в качестве методических рекомендаций для исследования обонятельных жгутиков млекопитающих.

Полученные данные использованы в курсе лекций по нормальной физиологии в ВМА им. С.М. Кирова и биофизике в СПбГПУ и СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, изложения результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и список цитируемой литературы. Полный объем диссертации составляет 134 страницы, в том числе 41 рисунок и 1 таблица. Список литературы содержит 115 наименований из них 31 на русском языке и 84— на иностранном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнялись на изолированных обонятельных выстилках лягушки *Rana temporaria* (n=113), крысы линии Вистар (n=8), кролика (n=3) и

человека ($n=1$). Изучение двигательной активности обонятельных жгутиков проводили методами прижизненной телевизионной фазово-контрастной и флуоресцентной микроскопии, позволяющими наблюдать за отдельными обонятельными жгутиками. Для исследования двигательной реакции обонятельных жгутиков выстилку стимулировали одорантами. В качестве одорантов были выбраны представители прогорклого запаха – амиловый спирт, камфорного запаха – природная тёртая d-камфора, аромата душистого эвкалипта – цинеол, едкого и гнилостного запахов, соответственно аммиак (нашатырный спирт) и сероводород (β -меркамтоэтанол).

Концентрацию раздражителей подбирали по изменению двигательной активности обонятельных жгутиков. Для всех одорантов она составляла 10^{-5} М.

Чтобы оценить вклад молекул актина в немышечную подвижность обонятельных жгутиков, препарат обонятельной выстилки обрабатывали цитохалазином в концентрации 4 мкг/мл, в течение 20 минут. Это вещество блокирует полимеризацию G-актина.

Для доказательства участия тубулин-динеиновой молекулярной системы подвижности в двигательной активности ОЖ обрабатывали обонятельную выстилку колхицином в концентрации 30 мкг/мл в течение 30 минут. Этот агент вызывает деполимеризацию микротрубочек посредством ингибирования боковых связей между протофиламентами. При связывании с тубулиновыми гетеродимерами колхицин начинает флуоресцировать, что является достоверным индикатором деполимеризации микротрубочек.

В соответствии с поставленными задачами использовали метод обработки видеосигнала, который содержит пять основных стадий:

- 1) первичную обработку видеоизображений;
- 2) получение первичных данных;
- 3) проведение спектрального анализа Фурье;
- 4) вычисление информационной энтропии;
- 5) определение и отображение пространственной локализации обонятельного жгутика – построением траектории движения кончика обонятельного жгутика в плоскости, перпендикулярной этому движению (наподобие фигур Лиссажу).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как визуальный, так и объективные методы анализа полученных результатов позволили убедиться в том, что на химическую стимуляцию обонятельные жгутики реагируют изменением своей подвижности. Локомоторная реакция обонятельных жгутиков на стимуляцию одним и тем же

одорантом имела сходный характер у лягушек *Ranatemporaria*, крыс, кроликов и человека. Это свидетельствует об однородности и эволюционном консерватизме молекулярных систем подвижности обонятельных жгутиков. В отличие от этого, в реакциях обонятельной выстилки разные пахучие вещества проявляются гетерогенность двигательной активности обонятельных жгутиков.

При действии на обонятельный эпителий амилового спирта обонятельные жгутики начинали активно вытягиваться по направлению к источнику запаха в градиенте концентрации одоранта, надолго задерживаясь в этом положении. Подобное поведение обонятельных жгутиков аналогично хемотаксису мигрирующих клеток в градиенте концентрации хемоаттрактанта. Визуальные проявления двигательной реакции сопровождалось сужением частотного спектра (рис. 2) и сдвигом его в сторону низких частот. Энтропия достоверно снижалась на $9 \pm 6\%$ ($P < 0,04$). Уменьшалась площадь, занимаемая проекцией траекторий движений кончика жгутика на плоскость, перпендикулярную движению (рис. 1, 2). При этом площадь смещалась в градиенте концентрации амилового спирта в сторону источника одоранта. Следовательно, стимуляция обонятельной выстилки лягушки одорантом упорядочивает двигательную активность обонятельных жгутиков.

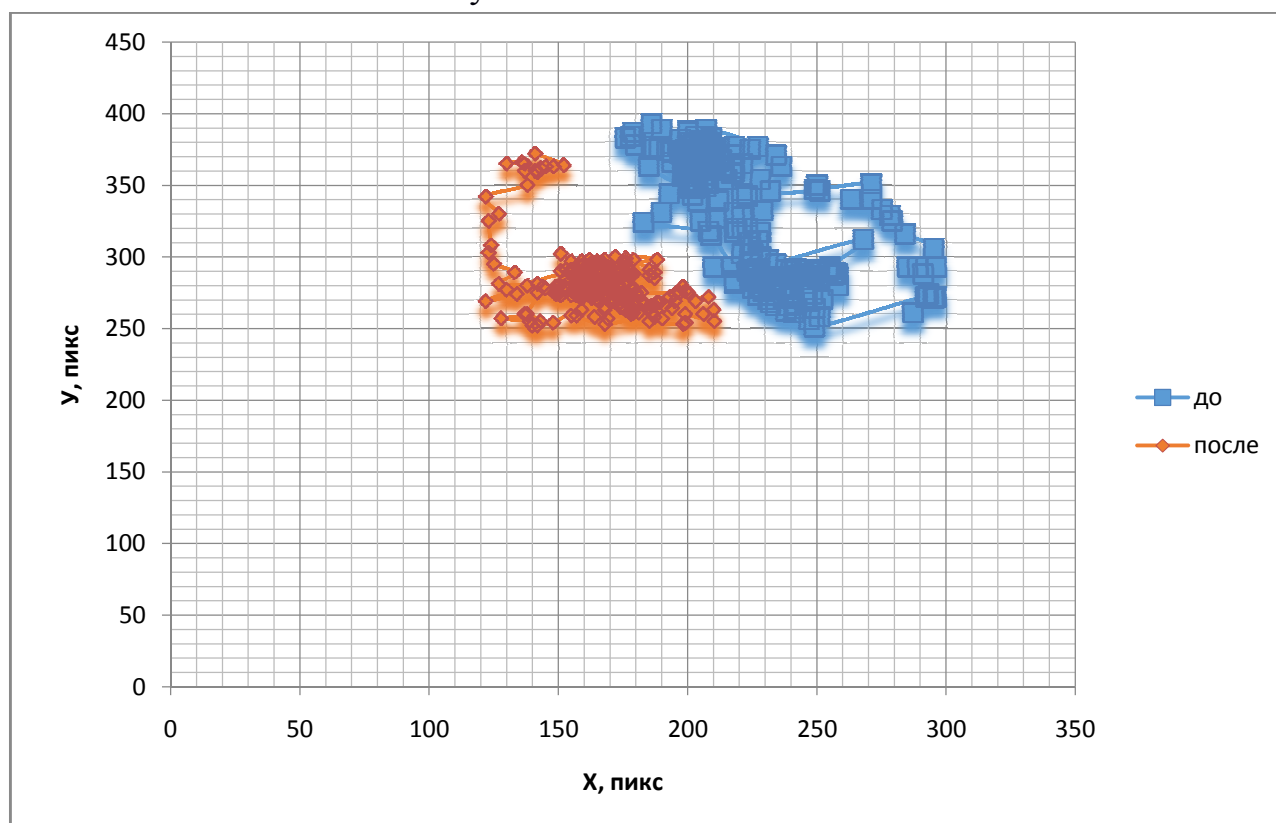


Рис.1. Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика до и после воздействия амиловым спиртом

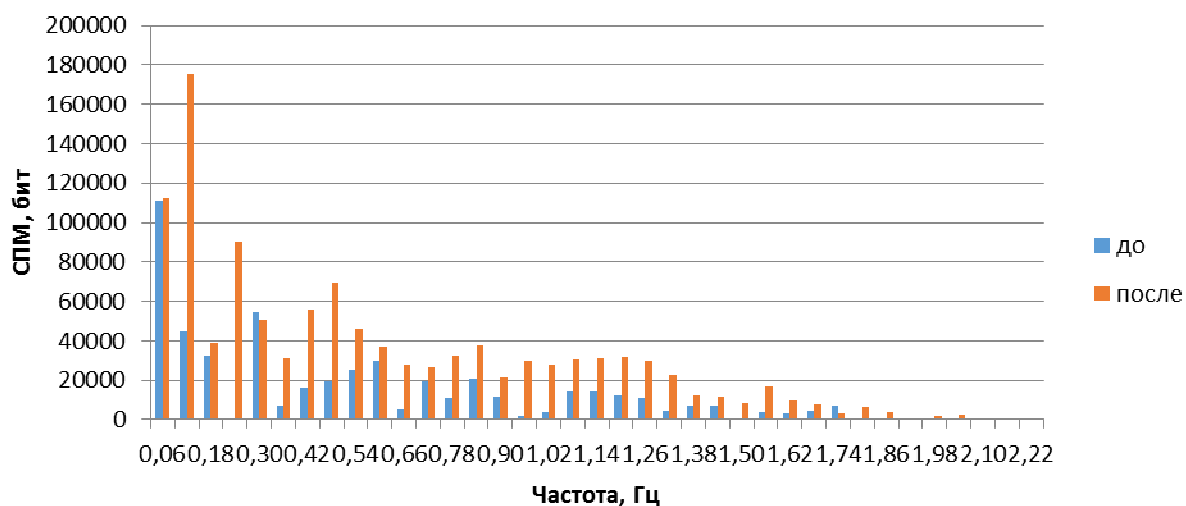


Рис.2. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия амиловым спиртом на обонятельную выстилку

Сходным образом изменялась двигательная активность обонятельных жгутиков под действием ванилина. При объективных методах анализа подвижность жгутиков в ответ на стимуляцию цветочным запахом упорядочивалась (рис. 3, 4) аналогично тому, как и при действии амилового спирта.

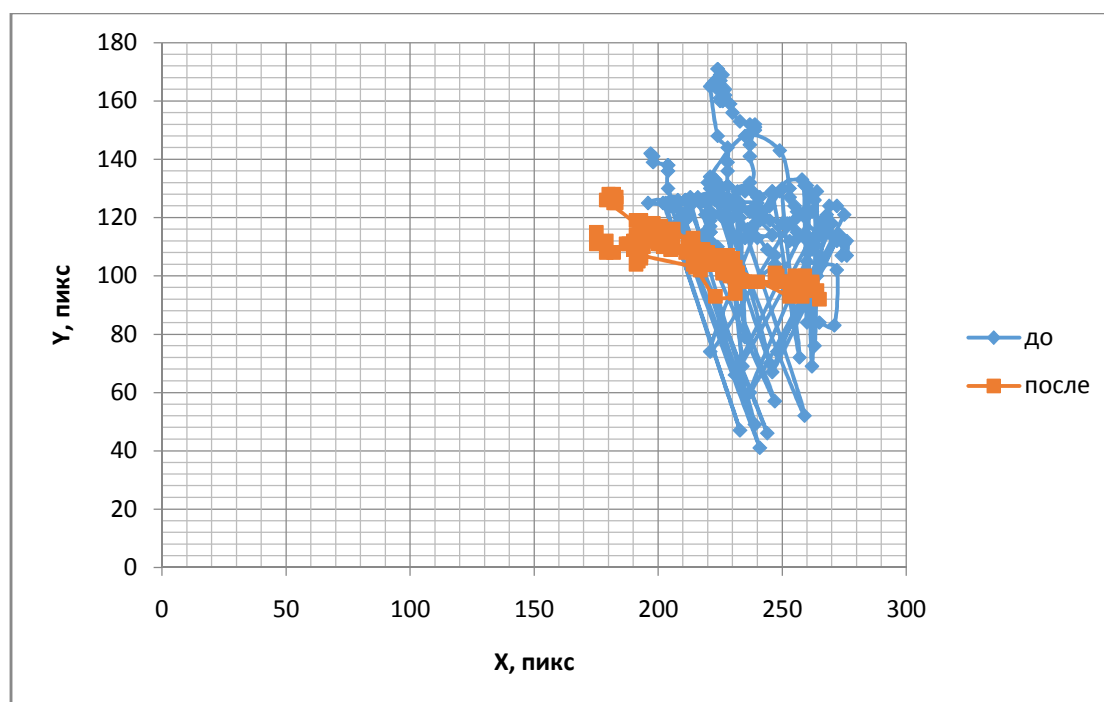


Рис.3. Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика до и после воздействия ванилином

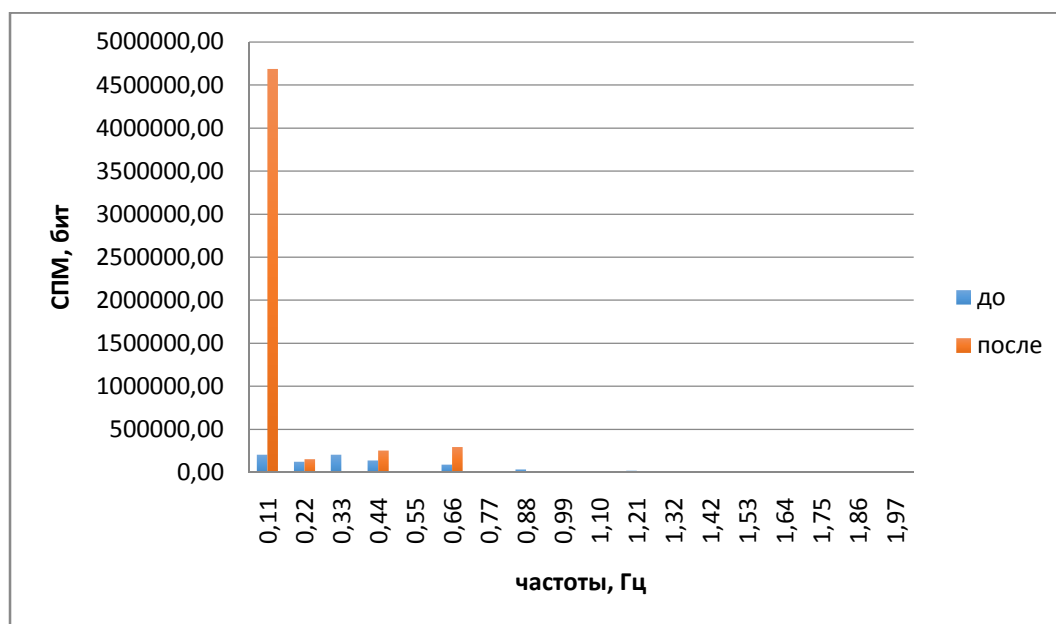


Рис.4. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия ванилином

Следовательно, локомоторные реакции обонятельных жгутиков на одоранты, имеющие прогорклый и цветочный запахи, оказались сходными. Поэтому мы объединили эти два одоранта в одну группу при анализе двигательной активности обонятельных жгутиков.

Следует отметить, что обонятельная трансдукция амилового спирта и ванилина осуществляется с участием разных внутриклеточных посредников [Бигдай Е.В., 2004]. Амиловый спирт вовлекает в этот процесс аденилатциклазную, а ванилин – фосфоинозитидную системы. Однако двигательные реакции на эти одоранты обнаруживают сходство. Можно предположить, что как аденилатциклазная, так и фосфоинозитидная системы внутриклеточных посредников вовлекаются в процесс реорганизации актинового цитоскелета в обонятельном жгуте под действием пахучих веществ.

Под действием камфоры обонятельный жгут изменял характер своего движения. Жгут становился более подвижным. Его двигательная активность под влиянием камфоры обладала интересными особенностями. При появлении одоранта жгут вытягивался по направлению к источнику запаха, замирал в этом положении, потом совершал резкий бросок обратно и менял свое направление на противоположное, вытягиваясь и противодействуя градиенту концентрации камфоры.

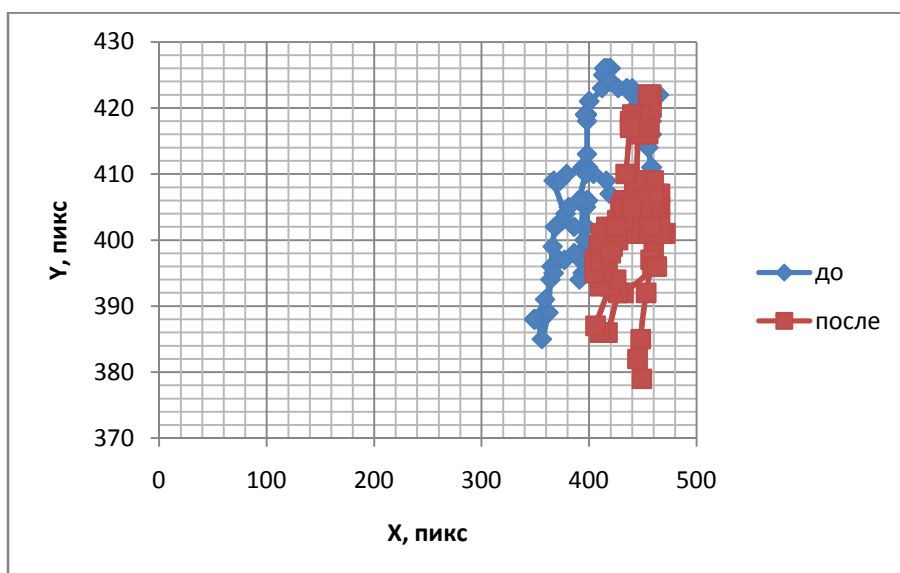


Рис.5. Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика до и после воздействия камфорой

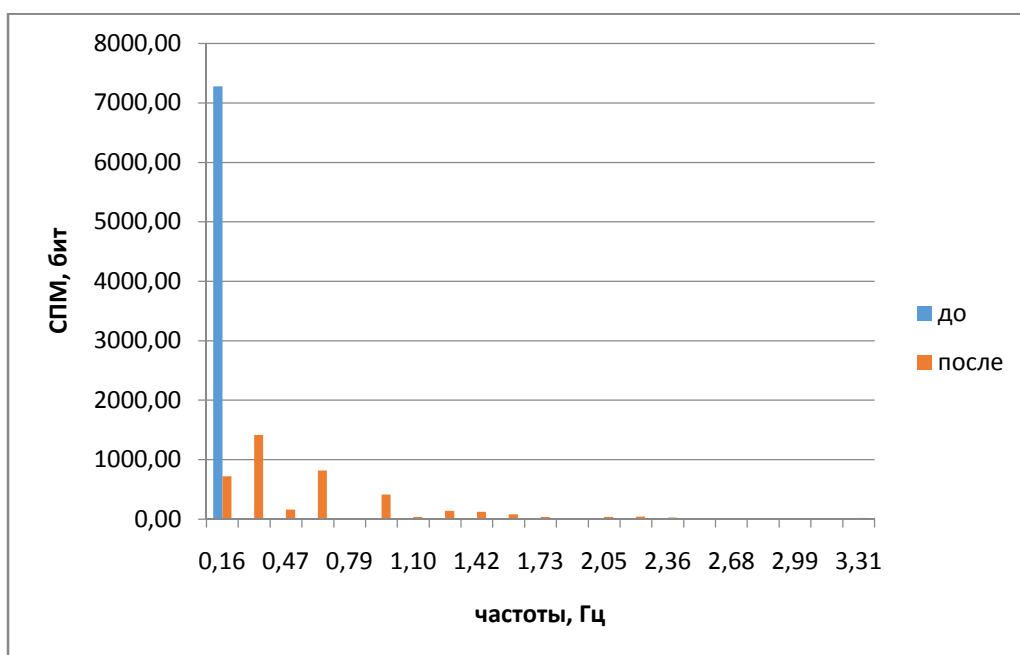


Рис.6. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия камфорой

При визуальном наблюдении могло показаться, что под действием камфоры движения обонятельных жгутиков не упорядочиваются. Это подтвердилось и при расчете энтропии, результат который показывал ее повышение на $40,0 \pm 5,2\%$ ($P < 0,05$). Однако такие показатели, как изменения гармонического спектра (рис. 6) и траектории движений обонятельных жгутиков (рис. 5), противоречили такому выводу и убеждали в том, что

камфора, подобно амиловому спирту и ванилину, также упорядочивает движение обонятельных жгутиков. Мы объяснили это противоречие тем, что побочным эффектом камфоры было повышение температуры среды, от чего энтропия повышалась настолько, что тепловой эффект преобладал над упорядочивающим воздействием камфоры.

Таким образом, влияние камфоры на двигательную активность обонятельных жгутиков отличается от амилового спирта и ванилина. Если траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика, свидетельствуют об упорядочении движений, инициируемых этим одорантом, то направление изменения энтропии и частотного спектра противоречат этому.

Другим пахучим веществом, относящимся, как и камфора, к терпеноидам, нам служил цинеол. Под действием его обонятельный жгутик начинал двигаться более активно, в направлении источника одоранта. Это подтвердилось построением траекторий наподобие фигур Лиссажу (рис. 7), где происходило смещение области движения кончика обонятельного жгутика в сторону источника запаха. При стимуляции обонятельного жгутика цинеолом энтропия снижалась на $9 \pm 1\%$ ($P < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют об упорядочении двигательной активности обонятельных жгутиков под действием запаха душистого эвкалипта. Вместе с тем повышалась средняя частота колебания обонятельных жгутиков на $26,10 \pm 6,32\%$ ($P < 0,05$) и расширялся гармонический спектр (рис. 8). Такое поведение обонятельного жгутика свидетельствует о неупорядоченности двигательной активности.

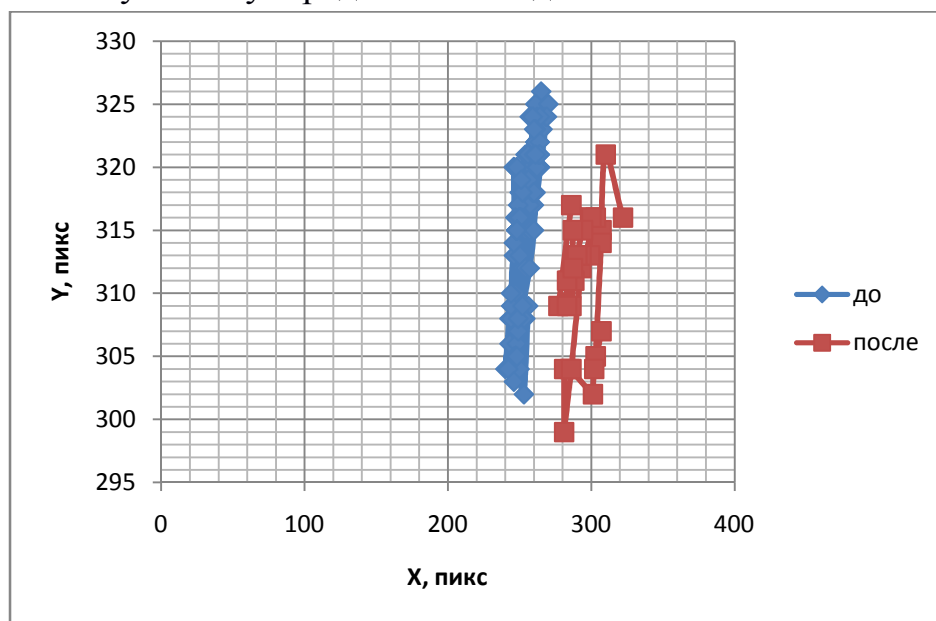


Рис.7. Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика до и после воздействия цинеолом

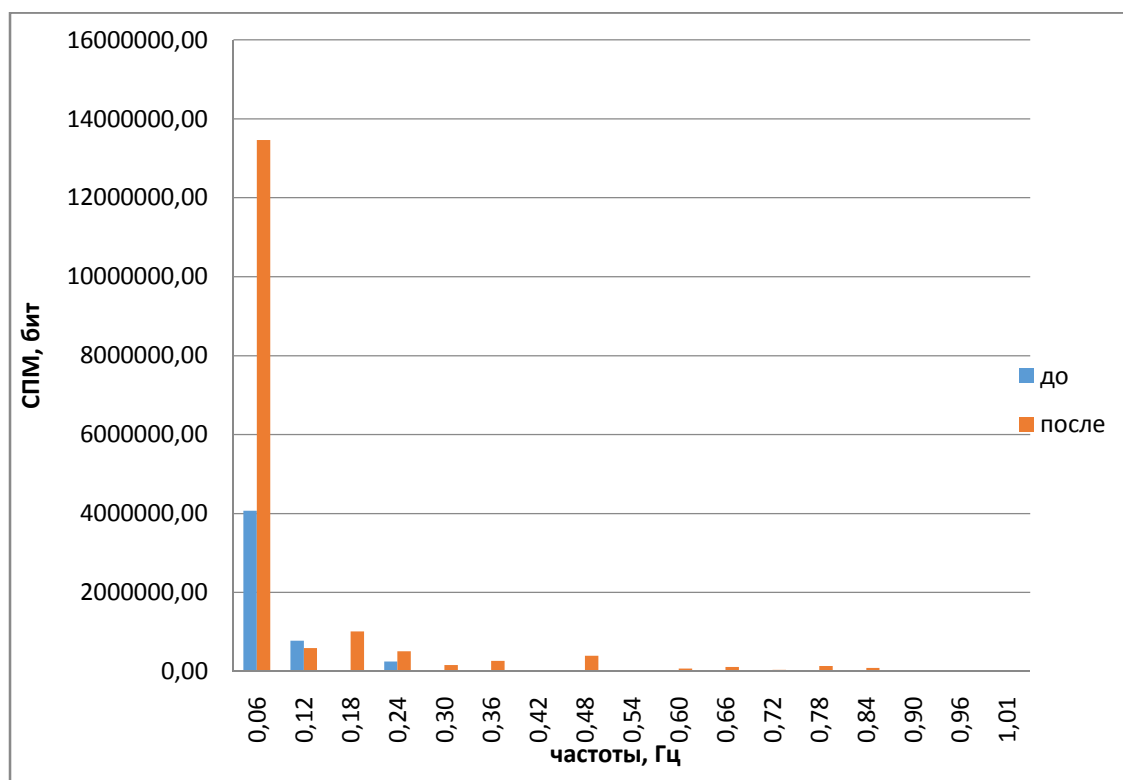


Рис.8. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия цинеолом

Как видно, реакция обонятельных жгутиков на цинеол сходна с их реакцией на камфору: одновременно проявляются процессы упорядочения и неупорядочения их двигательной активности. Обнаруженное сходство можно объяснить тем, что камфора и цинеол принадлежат к терпеноидам. Оба одоранта обладают как ольфакторными, так и температурными эффектами. Однако в отличие от камфоры, душистый эвкалипт вызывал ощущение холода, а не тепла.

Такое сходство двигательной реакции обонятельных жгутиков на камфору и цинеол позволило нам объединить их в одну группу, хотя по механизмам обонятельной трансдукции они гетерогенны и принадлежат к различным группам: камфора воспринимается через фосфоинозитидную систему внутриклеточных посредников, а цинеол – через аденилатциклазную систему.

Следующим исследованным веществом был сероводород, который помимо запаха обладает свойствами газотрансмиттера (относится к газам, участвующим в обмене информации между клетками). Визуальный анализ двигательной активности обонятельных жгутиков выявил, что под действием сероводорода обонятельный жгутик начинал двигаться более активно. Направленность его движений различить было трудно. При этом появлялись

дрожащие замирающие движения. Они сменялись восстановлением двигательной активности обонятельных жгутиков, но жгутик начинал значительно медленнее двигаться, причем движения имели судорожный характер. В этот момент жгутики вытягивались в струну и на долгое время (15 с) замирали в таком положении, подрагивая. При построении траекторий наподобие фигур Лиссажу (рис. 9) выявилось смещение области движения в сторону от источника запаха, средняя частота движений обонятельных жгутиков под действием газотрансмиттера возрастала на $13,04 \pm 4,65\%$ ($P < 0,05$) расширялся и частотный спектр (рис. 10), однако энтропия снижалась на $25\% \pm 1\%$ ($P < 0,05$). Таким образом, как визуальный анализ, так и объективные критерии свидетельствуют об упорядочении двигательной активности обонятельных жгутиков, инициируемой сероводородом. Вместе с тем изменения движений кончика обонятельного жгутика, вызванные сероводородом, отличаются от амилового спирта, камфоры, ванилина и цинеола, поскольку направление его движения противоположно направлению действующего стимула.

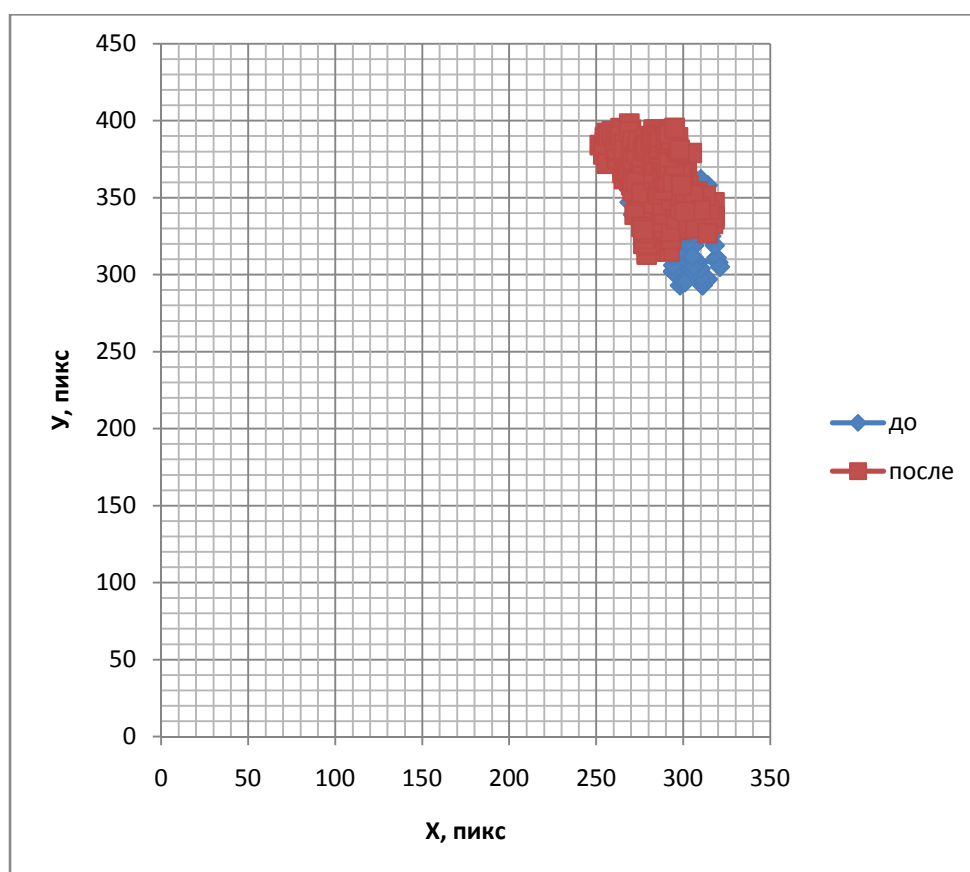


Рис.9. Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика лягушки до и после воздействия сероводородом

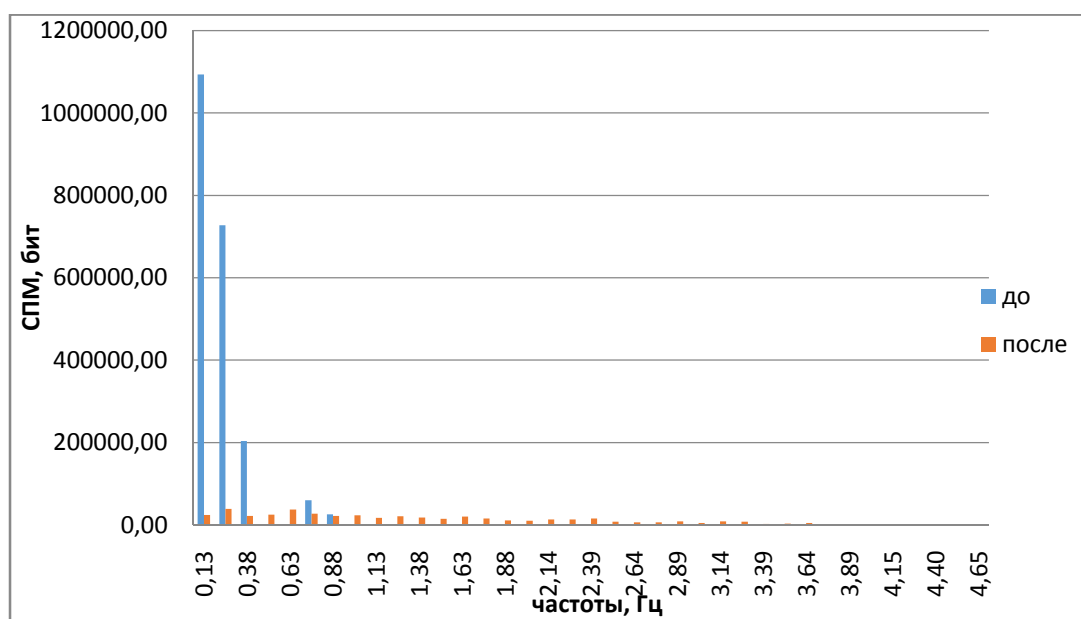


Рис.10. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия сероводородом

Кардинальные различия в реакциях обонятельных жгутиков на сероводород и другие одоранты может быть связана с тем, что сероводород является ирритантом с запахом тухлых яиц в высоких концентрациях, и выполняет роль репеллента в низких. При низких концентрациях сероводорода, используемых в наших экспериментах, двигательная реакция была обратимой, и после действия стимула движения ОЖ возобновлялись при удалении одоранта из среды.

Под действием аммиака жгутики начинали двигаться хаотично, разнонаправленно. При этом, если до стимуляции дистальная часть ОЖ двигалась пассивно за проксимальной частью, то на фоне одоранта жгутик по всей своей длине начинал змееподобно извиваться. ОЖ двигался с большей частотой, и эта частота повышалась на протяжении действия стимула. Затем он переставал колебаться, вытягивался и начинал дрожать. Смещения направления его движения в пространстве в градиенте концентрации аммиака визуальный анализ не выявил. Построение траектории движения кончика обонятельного жгутика в плоскости, перпендикулярной направлению движения жгутика (наподобие фигур Лиссажу), без действия аммиака и при стимуляции им обонятельной выстилки выявило, что только небольшой участок траектории выходит за пределы основной площади (рис. 11).

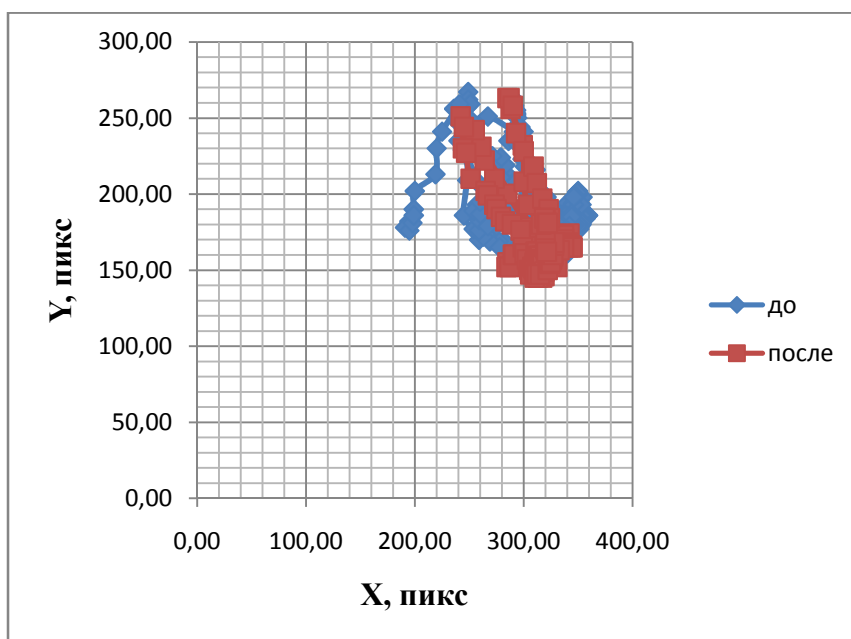


Рис.11.Траектории, подобные фигурам Лиссажу, отображающие перемещения обонятельного жгутика до и после воздействия аммиаком

При построении гармонических спектров (рис. 12) отмечено, что в присутствии аммиака они смещаются в область более высоких частотс 0,9 Гц до 1,4 Гц (т.е. на $35\% \pm 3\%$) ($P < 0,05$), где становятся значимыми, и появляются новые частоты с сужением частотного спектра. Средняя частота движения жгутиков возрастала, а энтропия снижалась на $15\% \pm 2\%$ ($P < 0,05$). Это означает, что под действием аммиака двигательная активность обонятельных жгутиков упорядочивается, то есть обонятельный жгутчик проявляет хемотаксис в градиенте концентрации NH_3 .

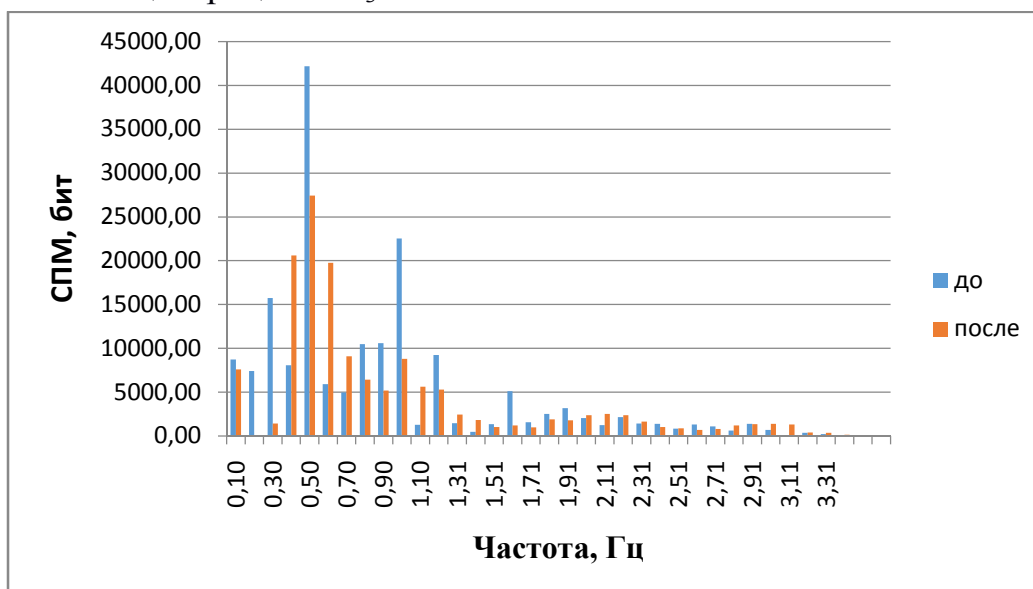


Рис.12. Гармонические спектры сложных колебаний обонятельного жгутика до и после воздействия аммиаком

Как показывают данные наших экспериментов, повышение частоты колебаний обонятельных жгутиков сменяется дрожанием, и они теряют способность совершать изгибательные движения, приняв жёсткую палочкообразную форму. Дрожание обонятельных жгутиков обуславливается, вероятно, неспособностью динеиновых ручек отсоединяться от тубулиновых дуплетов, чтобы совершить следующий шаг вдоль них.

Причиной этого может быть недостаток АТФ. Известно, что аммиак ингибирует клеточное дыхание, что приводит к дефициту АТФ, и как следствие, к энергетическому голоданию клетки. Вместе с тем Ca^{2+} выходит из митохондрий, пополняя пул клеточного Ca^{2+} , а это, в свою очередь, приводит к контакту динеиновых ручек с тубулином, образуя новую, более дистальную, точку фиксации.

В итоге реакции на аммиак сходны с реакцией ОЖ на сероводород. Таким образом, аммиак и сероводород, несмотря на различия, можно объединить в 3-ю группу одорантов.

Визуальный анализ и используемые нами объективные критерии позволили установить, что двигательная активность обонятельных жгутиков упорядочивается под действием прогорклого, цветочного, камфорного и эвкалиптового ароматов, а также при стимуляции обонятельной выстилки гнилостным и острым запахами. Результаты анализа выявили гетерогенность двигательной реакции обонятельных жгутиков в ответ на действие одорантов.

В первую группу вошли реакции на амиловый спирт и ванилин. В градиенте концентрации данных веществ движения обонятельных жгутиков сопровождались расширением спектра, снижением основной частоты и энтропии.

Во вторую группу попали реакции ОЖ на камфору и цинеол. В градиенте концентрации данных веществ движения обонятельных жгутиков сопровождались смещением траектории движения и возрастанием основной частоты со снижением энтропии.

В третью группу вошли реакции на сероводород и аммиак. В градиенте концентрации данных веществ движения обонятельных жгутиков сопровождались смещением области движения от одоранта и возрастанием основной частоты, которая сменялась дрожанием, вплоть до остановки. Энтропия увеличивалась.

Возможность разделения локомоторных реакций обонятельных жгутиков на 3 группы свидетельствует о гетерогенности двигательного ответа обонятельных жгутиков на одоранты.

Для того чтобы изучить взаимовлияние актин-миозиновой и динеин-тубулиновой систем на подвижность обонятельных жгутиков ($n=7$) мы сначала стимулировали интактный обонятельный эпителий одорантом. Это позволило нам определить жгутик, который упорядочивал свою двигательную активность под действием пахучего стимула. Затем мы инкубировали обонятельную выстилку в растворе колхицина, который разрушал микротрубочки и вызывал остановку проксимальной части жгутика. На этом фоне мы инкубировали препарат в растворе цитохалазина и останавливали этим сборку актина. Визуальный анализ показал, что под действием цитохалазина жгутики, в которых разрушены микротрубочки, сначала учащали свое движение, но вскоре замедлялись и останавливались. Реакция таких обонятельных жгутиков на цитохалазин отличалась от реакции обонятельных жгутиков с интактными микротрубочками, когда остановки жгутиков не происходило. Через некоторое время воздействовали на обонятельные жгутики амиловым спиртом, но жгутики движение не возобновляли, а энтропия приближалась к нулю.

Данные опыты показывают, что в движении обонятельных жгутиков участвуют две молекулярные системы биологической подвижности:

- 1) динеин-тубулиновая система, участвующая в неупорядоченном движении жгутика вне стимула;
- 2) актин-миозиновая система, которая обеспечивает упорядочение движения под действием одоранта.

Только во взаимодействии двух систем биологической подвижности возможно осуществление упорядоченности движения жгутиков под действием одоранта и их направленное движение к источнику запаха, как и ожидающие, рыскающие движения вне действия стимула.

Фармакологический анализ двигательной активности ОЖ показал, что их актин-миозиновая система функционирует и в отсутствие одорантов, подобно «пилотным псевдоподиям» у мигрирующих клеток. Формирующиеся при этом актиновые нити не могут обеспечить подвижность жгутиков, поскольку имеют небольшую длину, быстро образуются и распадаются. Однако наличие небольшого пула F-актина (своеобразных «полуфабрикатов») создает предпосылки для очень быстрой сборки длинных актиновых нитей при появлении в среде одоранта.

Можно полагать, что обонятельные клетки, не имея возможности мигрировать, непрерывно измеряют градиент концентрации пахучих веществ посредством движений своих жгутиков для которых характерны автоволновые процессы. По достижении пороговой величины концентрационного градиента неупорядоченные движения сменяются упорядоченными. С такими

преобразованиями двигательной активности ОЖ и могут быть связаны различия между порогом обнаружения и порогом опознания запаха.

ВЫВОДЫ

1. По двигательной реакции обонятельных жгутиков на запах и исследованные одоранты можно разделить на 3 группы: 1) прогорклый и цветочный; 2) камфорный и эвкалиптовый; 3) едкий и гнилостный – что является одним из проявлений гетерогенности двигательной активности обонятельных жгутиков.
2. Основная роль тубулин-динеиновой системы подвижности заключается в обеспечении движений обонятельных жгутиков вне стимула.
3. В своей двигательной активности обонятельные жгутики в отсутствие стимула подобны «пилотным псевдоподиям» у мигрирующих клеток.
4. Упорядочение движений обонятельных жгутиков под действием одорантов обеспечивается актин-миозиновой молекулярной системой
5. Сложный гетерогенный процесс перестройки опорно-двигательных молекулярных аппаратов в обонятельных жгутиках при направленных движениях в градиенте концентрации пахучих веществ подобен хемотаксису.

ПУБЛИКАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК

1. Панов С.А., Участие тубулин-динеиновой молекулярной системы в двигательной активности обонятельных жгутиков./ С.А. Панов, Е.В. Бигдай, Б.А. Дудич, В.О. Самойлов // Вестник военно-медицинской академии. – 2013. – том 3, вып. 43.– с. 130-134.
2. Бигдай Е.В., Объективные критерии оценки перехода неупорядоченной двигательной активности обонятельных жгутиков в упорядоченную./Е.В. Бигдай, В.О. Самойлов, В.В. Бекусова, Э.В. Крыжановский, Б.А. Дудич, С.А. Панов // Биофизика. – 2010. – том 55, вып.5. – с. 886-891.
3. Бигдай Е.В., Опорно-двигательный аппарат обонятельных клеток. / Е.В. Бигдай, В.О.Самойлов, С.А.Панов, Б.А. Дудич, // Цитология. – 2012. – том 54, вып. 9. – с. 666–667.
4. Самойлов В.О., Молекулярные машины опорно-двигательных аппаратов респираторных ресничек и обонятельных жгутиков./В.О. Самойлов, Е.В. Бигдай, Э.В. Крыжановский, Б.А. Дудич, С.А. Панов, Д.Д. Смирнов, А.С. Нестеров // Биофизика. – 2013. – Т.58, вып.2. – с.269-275.

Работы, опубликованные в материалах конференций

5. Самойлов В.О., Молекулярные и субклеточные механизмы биологической подвижности в висцеральных и сенсорных системах. / В.О. Самойлов, Е.В. Бигдай, В.В. Шабалин, С.А. Захарова, С.А. Панов, В.В. Бекусова // Механизмы функционирования висцеральных систем: VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 160-летию со дня рождения И.П.Павлова. Тезисы докладов. – СПб. – 2009. – с. 386-387.
6. Бигдай Е.В., Сверхслабые взаимодействия в обонянии. / Е.В. Бигдай, В.О. Самойлов, С.А. Панов // В кн.: V международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения биологии и медицине». Тезисы. – 2009. – с.23.
7. Самойлов В.О., Двигательная активность обонятельных жгутиков и хемотаксис. / В.О. Самойлов, Е.В. Бигдай, В.В. Бекусова, Э.В. Крыжановский, Б.А. Дудич, С.А. Панов // Материалы конференции Нейробиотелеком-2010. – СПб. – 2010. – с. 190-194.
8. Бигдай Е. В., Взаимодействие актин-миозиновой и динеин-тубулиновой систем обонятельных жгутиков в рецепции пахучих веществ. / Е. В. Бигдай, В. О. Самойлов, Э. В. Крыжановский, С. А. Панов, Б. А. Дудич // Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды». – СПб. – 2010. – с. 104.
9. Крыжановский Э.В., Методы и алгоритмы анализа двигательной активности обонятельных жгутиков. / Э.В. Крыжановский, В.О. Самойлов, Е.В. Бигдай, В.В. Бекусова, Б.А. Дудич, С.А. Панов // Материалы конференции Нейробиотелеком-2010. – СПб. – 2010. – с. 289.
10. Бигдай Е.В., Метрологические аспекты исследования двигательной активности немышечных клеток. / Е.В. Бигдай, В.О. Самойлов, Б.А. Дудич, С.А. Панов // Международная научная конференция Измерительные и информационные технологии в охране здоровья МетроМед 2011. Сборник научных трудов. – СПб. – 2011. – с. 62-64.
11. Панов С.А. Упорядочение двигательной активности обонятельных жгутиков под действием амилового спирта/ С.А. Панов// // Тезисы докладов XXXVIII Международной научно-практической конференции «НЕДЕЛЯ НАУКИ СПбГПУ». – СПб, 2009. – с. 23
12. Панов С.А. Влияние одорантов на двигательную активность обонятельных жгутиков земноводных и млекопитающих. / С.А. Панов // Тезисы докл. апрельской конф. ВНОКС. – СПб., ВМедА – 2009. – с. 38-39.

13. Панов С.А., Роль актин-миозиновой системы в изменении подвижности обонятельных жгутиков млекопитающих. / С.А. Панов // Тезисы докладов XXXIX Международной научно-практической конференции «НЕДЕЛЯ НАУКИ СПбГПУ». – СПб. – 2010. – с. 425-426.
14. Панов С.А., Упорядочение подвижности обонятельных жгутиков млекопитающих под действием одорантов. / С.А. Панов // Тезисы докладов XL Международной научно-практической конференции «НЕДЕЛЯ НАУКИ СПбГПУ». – СПб. – 2011. – с. 440-442.
15. Панов С.А., Упорядочение двигательной активности обонятельных жгутиков под действием пахучих веществ. / С.А. Панов // Тезисы докл. апрельской конф. ВНОКС. – СПб., ВМедА. –2011. – с. 168-169.
16. Панов С.А., роль тубулин-динеиновой системы подвижности в подвижности обонятельных жгутиков. / С.А. Панов. // Тезисы докл. апрельской конф. ВНОКС. – СПб., ВМедА. –2012. – с. 63-64.
17. Панов С.А., Гетерогенность двигательной активности обонятельных жгутиков. / С.А. Панов // Сборник научных трудов «Нейробиотелеком-2012». – СПб. – 2012. – с. 125-128.