

ХЕМОСЕНСОРНЫЕ И МЕХАНОСЕНСОРНЫЕ ФУНКЦИИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЖГУТИКОВ

© 2018 г. Е.В. Бигдай, В.О. Самойлов

Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

E-mail: bigday50@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.18 г.

Представлен обзор современных представлений об обонятельных жгутиках как органеллах, обладающих не только хемо-, но и механосенсорными свойствами. Выявлены и проанализированы молекулярные механизмы гетерогенности как их обонятельной трансдукции, так и двигательной активности. Предложена гипотеза, объясняющая механизм высочайшей чувствительности обонятельного анализатора, в который вносят вклад не только химические, но и механические свойства обонятельных жгутиков. Статья включает анализ литературы и экспериментальные данные авторов.

Ключевые слова: обонятельные жгутики, обонятельная трансдукция, актин, миозин, тубулин, динеин, ионные каналы.

DOI: 10.1134/S0006302918060133

Обонятельные клетки принадлежат клеткам жгутикового типа. Их апикальный полюс увенчан обонятельными жгутиками (ОЖ). Они представляют собой тонкие выросты плазматической мембраны ольфакторных клеток диаметром от 0,2 до 0,3 мкм. Различают три их разновидности по длине: короткие и тонкие (20–30 мкм в длину), такой же длины, но более толстые, содержащие от двух до восьми жгутиков, заключенных в общую плазмолемму, и длинные (50–200 мкм), утончающиеся к вершине [1].

В обонятельных жгутиках сосредоточены хемосенсорные аппараты. Именно с ними связан процесс обонятельного восприятия. Оно начинается со взаимодействия молекулы пахучего вещества с мембранным рецептором, локализованным в дистальном отделе ОЖ [2]. Все больше накапливается данных в пользу гипотезы о том, что в каждой обонятельной клетке экспрессируется только один обонятельный рецептор (ОР) для данного одоранта [3–6].

Считается, что ОР относятся только к классу молекулярных рецепторов, сопряженных с G-белком. Однако в наших исследованиях было показано, что в восприятие таких одорантов, как камфора и цинеол, этот механизм не вовлекается [7].

В геноме млекопитающих насчитывается до 1000 генов обонятельных рецепторов, что делает его на сегодняшний день крупнейшим семейством GPCR и, возможно, самым большим семейством генов во всем геноме. У рыб и земноводных их насчитывается около 100. У людей семейство генов ОР составляет ~30 Мб или 1% генома. Существуют также многочисленные псевдогены ОР (~300), в которых произошла мутация, приводящая к нефункциональному рецепторному белку [8].

Геномные исследования показывают, что количество генов ОР сильно варьирует между видами и может быть связано с экологией каждого вида, а также с его преимущественной зависимостью от обоняния при поиске пищи. Так, дельфины-афалины, обитающие в водной среде и пользующиеся эхолокацией для нахождения добычи, имеют менее 30 генов ОР, из которых только около половины функциональны, тогда как крупный рогатый скот и грызуны имеют от 1100 до 1600 функциональных генов ОР.

Примечательно, что у африканского слона насчитывается до 2000 функциональных генов ОР, которые обеспечивают им очень острое обоняние. Предполагается, что эти животные обладают способностью различать запахи этнических групп людей. В частности, воздействие запахов кенийского племени масаи, которые регулярно охотятся на слонов, вызывают больший страх у африканских слонов, чем запахи

Сокращения: ОЖ – обонятельные жгутики, ОР – обонятельные рецепторы.

племени камба, которое занимается сельскохозяйственными работами и не охотится на них.

Однако беспрецедентный размер и разнообразие семейства ОР свидетельствует о том, что каждый из них может быть высокоспецифичным для одного одоранта, поскольку свойства для большого разнообразия молекулярных рецепторов различны: варьирует их сродство к лигандам, фармакологическая реактивность, связь с другими компонентами клеток [9].

Вероятным сайтом связывания для одорантов является активный центр рецепторной молекулы, образующий карман. Изменчивость в этой области, наблюдаемая среди ОР, определяет диапазон, разнообразие и большое количество обнаруживаемых обонятельных лигандов [8].

Таким образом, обширная вариация, которая существует в генах ОР у человека и животных, влияет на обонятельную функцию и вносит вклад в видовые различия между людьми и животными в их способности обонять, в их чувствительности и предпочтениях к различным запахам [10].

Было высказано предположение, что ОР в обонятельном эпителии распределяются на основе химических свойств их лигандов: например, рецепторы для полярных, гидрофильных и слабо летучих одорантов локализируются преимущественно в дорзальной области обонятельного эпителия, тогда как рецепторы для неполярных, более летучих одорантов, распределяются в вентральной области.

Однако показано, что функциональная экспрессия ОР в обонятельном эпителии не связана с физико-химическими свойствами их лигандов (летучестью и растворимостью в воде). По мнению авторов, дифференциальная сорбция одорантов в периферической обонятельной системе грызунов, вероятно, опосредуется динамикой воздушного потока и физико-химическими свойствами слизистой органа обоняния [11].

Помимо ОР в обонятельных жгутиках сосредоточены компоненты внутриклеточных сигнальных систем. После связывания ОР с пахучей молекулой инициируется каскад событий, который преобразует химическую энергию связывания в рецепторный потенциал. Если при этом плазмолемма деполяризуется на 20 мВ, в аксоне обонятельной клетки генерируется потенциал действия. Он затем распространяется вдоль аксона, который проходит через решетчатую пластинку в передний мозг, где образует синапс с нейронами второго порядка в обонятельной луковице [8].

Недавние молекулярно-генетические исследования с использованием трансгенных мышей показали, что все обонятельные клетки, экспрессирующие один и тот же ОР, независимо от того, где они находятся на обонятельном эпителии, сходятся к одной «мишени» в обонятельной луковице. Этой мишенью являются гломерулы, сферические конгломераты нейропиля диаметром от 50 до 100 мкм, которые состоят из входящих аксонов обонятельных клеток и дендритов митральных клеток.

Следовательно, благодаря химической чувствительности на ОЖ формируется информация о запахе, поступающая в обонятельную луковицу, из которой прямые проекции устанавливаются с передним обонятельным ядром, энторинальной корой, обонятельным бугорком, грушевидной извилиной и амигдалярным комплексом [12]. В этих проекциях кодирование качества раздражителя осуществляется в соответствии с принципом «меченой линии».

Лучше других в механизме обонятельной трансдукции изучена внутриклеточная сигнальная система цАМФ. Ключевым ферментом в этом каскаде вторичных посредников является специфическая для обоняния мембранная аденилатциклаза III типа (АЦIII), сопряженная с G_{olf} -белком. В результате активации АЦIII повышается концентрация внутриклеточного цАМФ. Затем открываются Ca^{2+} -каналы, регулируемые циклическими нуклеотидами (CNG-каналы), инициируя вход Ca^{2+} через них. В результате в возбужденном ОЖ генерируется рецепторный потенциал, который в конечном итоге приводит к генерации потенциалов действия, распространяющихся в специфические гломерулы.

Вместе с тем посредством прижизненной флуоресцентной микроскопии с применением фармакологического анализа нами было показано, что процессу обонятельной трансдукции свойственна гетерогенность [7]. Это означает, что в восприятии каждого из исследуемых нами одорантов принимает участие присущая ему внутриклеточная сигнальная система. Так, амиловый спирт и амилацетат активируют сигнальную систему цАМФ с участием G-белка, а трансдукция камфоры и цинеола опосредуется тирозинкиназной сигнальной системой. Однако под действием камфоры тирозинкиназа активирует фосфоинозитидный путь, а под влиянием цинеола – сигнальную систему цАМФ. Восприятие ванилина осуществляется посредством активации фосфоинозитидной внутриклеточной сигнальной системы.

В трансдукции таких молекул, как сероводород и аммиак, участвуют ионы кальция. Эти

молекулы способны проникать через плазмолемму и мембраны органелл, включая митохондриальные. При этом в ОЖ угнетается клеточное дыхание, в результате чего повышается концентрация цилиарного кальция, играющего роль внутриклеточного посредника в реакциях на эти одоранты [7].

Помимо химической трансдукции каскад вторичных мессенджеров обеспечивает кооперативные процессы. Один мембранный рецептор, активированный связыванием с одорантом, может, в свою очередь, активировать десятки G-белков, каждый из которых активирует молекулу АЦП, способную ежесекундно продуцировать несколько тысяч молекул цАМФ. Чтобы открылся один CNG-канал, требуются три молекулы цАМФ, но при этом через него могут проходить сотни тысяч ионов. Однако для генерации потенциала действия необходимо, чтобы одновременно открылись несколько каналов. Как видно, достаточно связывания одной молекулы одоранта с рецептором, чтобы удовлетворить этим условиям [8].

Описанный путь усиления сигнала в обонятельных жгутиках дополняется еще одним уникальным механизмом. Ионы кальция, поступающие через CNG-каналы, способны активировать хлорные каналы. Известно, что в нейронах Cl⁻-каналы обычно опосредуют ингибирующие реакции, так как анионы Cl⁻, как правило, входят в клетку. Ольфакторные клетки, будучи нервными, имеют необычно высокую концентрацию внутриклеточного Cl⁻. Поэтому при активации этих каналов он выходит из обонятельных клеток, вызывая добавочную деполаризацию жгутиковой мембраны. В результате увеличивается амплитуда возбуждающего ответа, обеспечивая реакцию на пахучий стимул при более слабой его интенсивности [8].

Помимо своего прямого предназначения обонятельных клеток в хеморецепции как органа обоняния, многочисленные данные свидетельствуют о том, что обонятельная система является мишенью для гормонов, связанных с метаболизмом и регуляцией потребления пищи; она адаптирует свою функцию к потребностям в питании, стимулируя или подавляя пищевое поведение. Одним из таких факторов являются орексины (ОХА и ОХВ), представляющие собой пару нейропептидов, синтезируемых гипоталамическими нейронами. Они участвуют в нескольких нейроэндокринных функциях, включая и регулирование приема пищи. Орексинергические волокна проецируют в гипоталамус, кору головного мозга, таламус, гиппокамп, амигдалу и весь обонятельный путь [13].

Иммуноцитохимическая локализация орексинов и их соответствующих рецепторов наблюдается в дендритных булавах и дистальных отделах обонятельных жгутиков. Восприятие этих нейропептидов осуществляется посредством активации аденилатциклазы и фософлипазы С в результате взаимодействия орексинов с рецепторами в мембране ОЖ. В конечном счете на аксоне обонятельных клеток генерируются потенциалы действия, распространяющиеся в центральные отделы обонятельного анализатора.

Показано, что орексинергические сигналы влияют на обонятельную систему. Можно полагать, что это связано с взаимно усиливающими друг друга реакциями на орексины и одоранты на уровне этих отделов головного мозга. Такое предположение основывается на том, что у нарколептических и катаплектических пациентов со специфической потерей центральных орексинергических нейронов ослабевает способность к обнаружению, дискриминации и идентификации обонятельного стимула [13].

Помимо рецепторов к одорантам и орексинам в мембране ОЖ экспрессируются рецепторы к инсулину, картография которых устанавливается в течение первых трех недель жизни. Накапливаются доказательства существования эндогенного инсулина, продуцируемого в обонятельной слизистой оболочке, который дополняет периферический циркулирующий источник инсулина [13].

Рецепторная экспрессия для инсулиновых рецепторов регулируется пищевым статусом человека и животных. Следовательно, метаболический статус может контролировать способность обнаруживать одоранты, т.е. обонятельную чувствительность, с участием рецепторов к инсулину, локализованных на ОЖ. Изменяя обонятельную чувствительность, инсулин модулирует и поведение, связанное с поиском и потреблением пищи [13].

Однако не только метаболический статус влияет на обоняние, но и обоняние влияет на энергетический баланс и массу тела, изменяя метаболизм и поведение, связанное с питанием. Эксперименты, проведенные на животных, выявили анатомические пути этих связей между латеральным гипоталамусом и четырьмя корковыми областями, получающими волокна из обонятельной луковицы – переднее обонятельное ядро, пиропормную кору, обонятельный бугорок и переднее кортикальное ядро миндалины.

По этим областям обонятельная информация, генерируемая в ОЖ, достигает гипотала-

муса. Через эти корковые образования ольфакторные стимулы участвуют в модуляции объема потребляемой пищи и могут в некоторых случаях приводить к перекармливанию. Ожирение увеличивает риск возникновения аносмии, а связь способности идентифицировать запахи с увеличением ожирения, полом и возрастом коррелирует с когнитивными изменениями [13].

Таким образом, экспрессия ольфакторных рецепторов, $G_{\alpha_{olf}}$ и аппарата обонятельной сигнальной трансдукции в ОЖ модифицируется при нарушении обмена веществ, и, наоборот, экспрессия аппарата обонятельной трансдукции способна в свою очередь вносить вклад в нарушения обмена веществ. Обонятельная система может фактически модулировать энергетический баланс через пути, участвующие в его регулировании.

Как видно из изложенного выше, энергетический баланс и обоняние, представленное в периферическом отделе обонятельного анализатора, тесно взаимосвязаны. Не случайно обонятельную систему считают не просто сенсором внешних химических сигналов для обонятельного восприятия, но параллельным механизмом для подсознательного обнаружения внутренних химических сигналов — «химией метаболизма» [13].

Знание механизмов связи между обонятельной системой и аппетитом необходимо нейробиологам, диетологам и гастроэнтерологам для лучшего понимания пищевого поведения человека особенно для лечения таких расстройств, связанных с аппетитом, как ожирение, нервная булимия и нервная анорексия [10].

Одним из важных химических соединений, с которым взаимодействуют обонятельные жгутики, является глюкоза. Как уже говорилось выше, механизм обонятельной трансдукции сопровождается гидролизом АТФ. Хемотрансдукция требует значительного содержания этого макроэрга особенно при длительной стимуляции. В режимах интенсивного воздействия одорантов, как это происходит в природе, потребление АТФ должно увеличиваться по всей длине жгутика. Например, у грызунов в ОЖ на всем их протяжении (около 50 мкм) отсутствуют митохондрии [14].

Известно, что митохондрии в обонятельных клетках сосредоточены главным образом в булавах. Предполагают, что АТФ из основания жгутика диффундирует вдоль него на расстояние 10 мкм за 500 мс. Таким образом, при длине ОЖ в 50 мкм АТФ из митохондрий булавы не может обеспечить нужды хемотрансдукции, осуществляемой в дистальном отделе жгутика. Поэтому, вероятно, необходим допол-

нительный его источник, поскольку люминальный АТФ следует постоянно и эффективно пополнять для предотвращения метаболической усталости, особенно в отдаленных от булавы областях [15].

Авторы работы [16] в своих исследованиях обнаружили глюкозу и переносчик глюкозы GLUT3 в мембране ОЖ крыс и жаб. Концентрация глюкозы в жгутиках обонятельных клеток достигает 1 мМ. В них же локализуются и гликолитические ферменты. Удаление глюкозы и ингибирование гликолиза или окислительного фосфолирования ослабляли реакцию на запах [16].

Это явилось доказательством того, что для обонятельной трансдукции необходим АТФ, генерируемый в результате окислительного фосфорилирования в обонятельной булаве и гликолиза в дистальных отделах жгутиков с использованием глюкозы, усваиваемой из обонятельной слизи [15]. Для этого глюкоза транспортируется из кровеносных сосудов к поверхности эпителия слизистой оболочки через опорные клетки [16].

Вместе с тем АТФ необходим не только для хемотрансдукции. Этот макроэрг обеспечивает энергией и вторую функцию ОЖ — механорецепторную. У всех позвоночных животных, включая человека, в отсутствие в среде пахучих стимулов ОЖ движутся [1,17]. Они совершают движения в режиме рыскания, сканируя обширную область пространства, словно в поиске пахучих веществ. Вероятно, именно рыскающие движения представляют собой один из механизмов высокой чувствительности обонятельного анализатора, так как при рыскании повышается вероятность их встречи с молекулами пахучего вещества.

Жгутики обонятельных клеток в отсутствие раздражителя совершают неупорядоченные движения, напоминающие движение хлыста в руке погонщика. ОЖ колеблются с разной частотой: короткие и тонкие — 40–50 колебаний в минуту, короткие и толстые — от 15 до 30 движений, а длинные — с частотой 10–25 колебаний в минуту [18].

Описанные выше данные относятся к локомоторной активности ОЖ земноводных. Следует отметить, что во мнениях о двигательной активности обонятельных жгутиков у млекопитающих такой солидарности нет. Ряд авторов считает, что ОЖ млекопитающих неподвижны [19,20]. Однако эти авторы обосновывают свою точку зрения неполноценностью аксонемы ОЖ, основываясь на данных электронной микроскопии, и не подтверждают этот вывод прижизненными исследованиями.

В наших экспериментах посредством прижизненной телевизионной микроскопии удалось обнаружить двигательную активность ОЖ не только у лягушек (*Rana temporaria*), но и у кроликов, крыс и человека. Она оказалась сходной с их подвижностью у земноводных: движения жгутиков у всех исследуемых нами животных не упорядочены, когда в среде нет одорантов.

Результаты наших исследований с применением колхицина позволили прийти к заключению, что рыскающие движения жгутиков вне действия стимула обусловлены функционированием тубулин-динеиновой молекулярной системы подвижности, сосредоточенной в проксимальном отделе ОЖ. Именно в нем динеин взаимодействует с тубулином, в результате чего генерируется механическая энергия для двигательной активности этих органелл [21–23]. Очевидно, дистальный отдел ОЖ, в котором отсутствует полноценный опорно-двигательный аппарат, движется пассивно за проксимальным. Следовательно, активные процессы, сосредоточенные в проксимальном отделе, обеспечивают сложную траекторию пассивного движения дистальных областей жгутиков обонятельных клеток.

Как показали наши исследования, для двигательной активности жгутиков вне действия пахучего стимула необходимы ионы кальция, так как ОЖ останавливались при появлении в среде ЭГТА, связывающего внеклеточный кальций [23,24]. Следовательно, локомоторную функцию ОЖ выполняют благодаря входу Ca^{2+} из внеклеточной среды.

Эксперименты, проведенные нами с использованием рутениевого красного (блокатора Са-каналов семейства TRP) и гадолиния, блокирующего механочувствительные ионные каналы, позволили нам прийти к заключению, что кальций входит в цилиарный цитозоль через механочувствительные кальциевые каналы семейства TRP [25].

Впервые такие каналы были описаны в процессе фототрансдукции у *D. melanogaster* [26]. Затем гомологи были обнаружены и идентифицированы у червей, омаров, млекопитающих. Они вовлекаются в такие сенсорные функции, как осморцепция, боль, слух и обоняние. TRP-каналы принадлежат семейству каналов механотрансдукции. Они активируются при действии внешних механических сил и сил, производимых собственными движениями, и преобразуют механическую энергию в электрическую [26].

Однако, как оказалось, функционирования только TRP-каналов недостаточно для обеспе-

чения электромеханического сопряжения в ОЖ. В дальнейшем методом прижизненной световой телевизионной микроскопии с использованием фармакологического анализа нам удалось установить, что двигательная активность ОЖ вне действия одорантов обуславливается входом Ca^{2+} через три типа ионных каналов – механочувствительные, циклонуклеотид-зависимые и потенциал-зависимые.

Вход ионов кальция через эти каналы уже в «покое» (вне действия пахучего раздражителя) генерирует мембранный потенциал в ОЖ, который распространяется по аксонам обонятельных клеток в обонятельную луковицу. Этим самым механическая активность ОЖ в «покое» способствует повышению обонятельной чувствительности. Таким образом, механосенсорная функция ОЖ повышает химическую чувствительность органа обоняния. Однако этим не ограничивается вклад биомеханики ОЖ в способность обнаруживать запахи.

Показано, что каналы, регулируемые цАМФ, открыты для кальция в отсутствие одорантов. Это означает, что цАМФ присутствует в цитозоле ОЖ в «покое». Действительно, без обонятельной стимуляции концентрация этого сигнального посредника в ОЖ колеблется от 0,1 до 0,3 мкМ и повышается под действием одорантов. Для открытия одного CNГ-канала, необходимо, чтобы с ним связались две молекулы цАМФ. Связывание со второй молекулой максимально увеличивает вероятность открытия этого состояния этого канала, деполяризуя жгутиковую мембрану в состоянии «покоя» [27].

Следовательно, присутствие цАМФ в цитозоле вне действия раздражителя обеспечивает обонятельным клеткам более высокую чувствительность. Это объясняется тем, что при его концентрации от 0,1 до 0,3 мкМ значительно увеличивается рецепторный ток, генерируемый в результате увеличения этой концентрации. При таком содержании цАМФ в ОЖ может возникать достаточно большая деполяризация в ответ на очень небольшой обонятельный стимул [28].

Каким образом повышается концентрация цАМФ в ОЖ для открытия CNГ-каналов в них в отсутствие обонятельного стимула? В покое он образуется в той области ОЖ, где сосредоточена АЦП. Благодаря базальной активности этого фермента АТФ превращается в цАМФ, который затем активирует CNГ-каналы [29]. Показано также, что в мембранах ОЖ экспрессируется АЦП, которая необходима для обнаружения как запахов, так и механических стимулов [30]. Она напрямую, без участия G_s -белка, активируется растяжениями мембраны.

Это механическое усилие передается через актиновый цитоскелет [31].

Поэтому можно предположить, что сама жгутиковая локомоция активирует АЦШ, приводя к повышению концентрации цАМФ в цитозоле и возникновению нестимулируемой одорантами электрической активности в обонятельных клетках. Таким образом, высокая чувствительность обонятельного анализатора складывается из совместного функционирования хемо- и механотрансдукции.

Как установлено в наших экспериментах [32], механическая активность ОЖ модулирует их мембранный потенциал. Вместе с тем происходит и обратный процесс, в котором мембранный потенциал ОЖ в зависимости от степени деполяризации может изменять двигательную цилиарную активность обонятельных клеток. Он либо учащает колебания, либо урывает их вплоть до полной остановки ОЖ. Это обуславливается входом ионов кальция через потенциал-зависимые ионные каналы, открываемые при деполяризации. При остановке ОЖ уменьшается или прекращается синтез цАМФ, и, как следствие, ослабляется обонятельная чувствительность.

Таким образом, в «покое», т.е. в отсутствие одорантов, обонятельные жгутики двигаются. Движения совершаются с участием механочувствительных, Ca^{2+} - и потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, открытых в отсутствие одорантов. Эта локомоторная активность управляется по механизму электромеханического сопряжения. Мембранный потенциал в условиях отсутствия адекватного стимула может влиять на остроту обоняния и способность воспринимать слабые обонятельные раздражители [32]. Возможно, двигательная активность ОЖ способствует превращению АТФ в цАМФ посредством активации АЦШ, чувствительной к механическому воздействию, что, в свою очередь, повышает чувствительность к слабому обонятельному стимулу.

Однако, как было показано в наших исследованиях, после взаимодействия одоранта с ОР в мембране дистального отдела жгутика характер его движения изменяется. Оно становится упорядоченным и, подобно движению при хемотаксисе, совершается по направлению к источнику одоранта в градиенте его концентрации. Это было выявлено как при микроскопии, так и посредством разработанного нами метода компьютерного анализа. Благодаря этому мы получили объективные показатели перехода неупорядоченных движений ОЖ в упорядоченные [21,33].

Как оказалось, в упорядоченное движение ОЖ вовлекается актин-миозиновая молекулярная система подвижности. Этот вывод был нами сделан на основе данных, полученных посредством конфокальной микроскопии с использованием флуоресцентного зонда на F-актин (родаминфаллоидин). Мы установили, что взаимодействие одоранта с рецептором инициирует полимеризацию G-актина с образованием актиновых филаментов в дистальных отделах ОЖ. В обонятельных жгутиках был идентифицирован миозин VIIa, который, вероятно, способен при взаимодействии с актином обеспечить направленную локомоцию жгутиков при появлении в среде соответствующих одорантов [34], что мы наблюдали в наших экспериментах [21, 33].

Из сказанного выше следует, что в одном ОЖ сочетаются свойства амебовидных и реснитчатых клеток. В двигательном акте у них участвуют две молекулярные системы подвижности. В отсутствие одорантов тубулин-динеиновая система создает неупорядоченные движения в режиме рыскания. При появлении в среде пахучих веществ в ОЖ, подобно хемотаксису в других типах клеток, инициируется реорганизация опорно-двигательного аппарата – формируется актин-миозиновая система, обеспечивающая упорядоченное движение жгутика в направлении источника одоранта.

Анализ полученных нами результатов выявил еще одну закономерность. Как и механизмам обонятельной трансдукции, движениям ОЖ свойственна гетерогенность. Ее нам удалось выявить посредством фигур, подобных фигурам Лиссажу. Как оказалось, эти фигуры различны для разных одорантов. Так, под действием амиллового спирта площадь, занимаемая траекторией движения кончика ОЖ в плоскости, перпендикулярной этому движению, уменьшается, тогда как при стимуляции камфорой – увеличивается.

По-разному меняется не только площадь, но и направление их движения, зависящее от применяемого стимула. Вероятно, варьируя этими параметрами своей локомоторной активности, жгутики приспособляются к восприятию различных пахучих веществ, повышая вероятность встречи с молекулой одоранта [33].

Следовательно, механические свойства ОЖ меняются. Эти изменения также направлены на повышение чувствительности обонятельного анализатора. Но для этого необходимо присутствие в среде пахучего стимула, т.е. выполнение хеморецепторной функции обонятельными жгутиками. Без нее не будет осуществляться реорганизация опорно-двигательного аппарата в

ОЖ, приводящая к упорядоченной направленной локомоторной активности.

В наших исследованиях выяснилось также, что и вне действия одорантов актиновые филаменты формируются, но они не способны обеспечить активные направленные движения дистального отдела ОЖ. Вместе с тем их непрерывное образование и распад создают предпосылки для быстрой сборки фибриллярного актина при появлении в среде запаха. Сложный процесс перестройки опорно-двигательного аппарата направлен на совершение обонятельными жгутиками хемотаксиса. Можно предположить, что обонятельные клетки в составе обонятельного эпителия, не имея возможности мигрировать, определяют градиент сигнальных молекул посредством упорядоченного движения своих ОЖ [33].

Следует отметить, что сигнальные пути, участвующие в локомоторной активности ОЖ, могут активироваться не только одорантами, но и лептином, нейропептидами, гормонами, дофаминами, орексином и АТФ. Это означает, что механосенсорная функция ОЖ меняется и под действием других химических веществ, а не только одорантов.

В наших опытах было показано, что источником энергии для локомоторной (механической) активности жгутиков служит АТФ, поскольку на фоне ингибиторов клеточного дыхания они останавливаются. Однако при этом синтез АТФ в митохондриях обонятельных клеток, необходимый для обеспечения обоих видов двигательной активности ОЖ, осуществляется разными путями. Движения ОЖ вне действия стимула снабжаются энергией АТФ, синтезируемой в митохондриях, тогда как под действием пахучих молекул включается дополнительный путь синтеза макроэрга — переход на окисление сукцината [24].

Для обонятельной трансдукции (т.е. хемосенсорной функции ОЖ) необходим АТФ, генерируемый в результате окислительного фосфорилирования в обонятельной булаве и гликолиза в дистальном отделе жгутика с использованием глюкозы, усваиваемой из обонятельной слизи [15].

Таким образом, хемосенсорная функция обонятельных жгутиков выполняет свою основную роль в восприятии пахучих веществ, а также участвует в других функциях организма животных и человека, в частности, связанных с пищевым статусом, влияющих на обонятельную чувствительность, когнитивные функции и поведение. Механизмы усиления сигнала, сосредоточенные в них, позволяют снизить пороги обнаружения одорантов и таким образом

повысить чувствительность обонятельного анализатора.

Вместе с тем хемосенсорная функция ОЖ зависит от механосенсорной. Локомоторная активность жгутиков уже в отсутствие одорантов, обеспечивая механизмы усиления аппарата трансдукции, способна влиять на остроту обоняния. В свою очередь, механосенсорная функция связана с хемосенсорной. Хемотаксис ОЖ, возникающий под действием пахучих стимулов, также направлен на усиление чувствительности обонятельного анализатора. Таким образом, как химическая, так и механическая чувствительность ОЖ, действуя вместе, способны обеспечить реакции обонятельного анализатора на обонятельные и не обонятельные раздражители в соответствии с потребностями организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2014–2020 годы (ГП-14, раздел 63).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. А. Бронштейн. *Обонятельные рецепторы позвоночных* (Наука, Л., 1977).
2. G. V. Ronnet and R. Payne, *Neuron* **15** (1), 11 (1995).
3. P. J. Clyne, C. G. Warr, M. R. Freeman, et al., *Neuron* **22** (2), 327 (1999).
4. A. M. Cunningham, P. B. Manis, R. R. Reed, et al., *J. Neurosci.* **93** (4), 1301 (1999).
5. P. Mombaerts, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **9** (3), 315 (1999).
6. D. P. Smith, *Neuron* **22** (2), 203 (1999).
7. Е. В. Бигдай, *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова* **90** (6), 790 (2004).
8. S. Firestein, *Nature* **413** (6852), 211 (2001).
9. Р. Н. Этингоф, *Журн. эволюц. биохимии и физиологии* **27** (5), 574 (1991).
10. E. E. Connor, Y. Zhou, and G. E. Liu, *J. Anim. Sci.* **96** (4), 1551 (2018).
11. T. Abaffy and A. R. DeFazio, *BMC Res. Notes* **4** (1), 137 (2011).
12. C. Zelano and N. Sobel, *Neuron* **48** (3), 431 (2005).
13. B. Palouzier-Paulignan, M.-C. Lacroix, P. Aimé, et al., *Chem. Senses* **37** (9), 769 (2012).
14. P. M. Jenkins, D. P. McEwen, and J. R. Martens, *Chem. Senses* **34** (5), 451 (2009).
15. P. S. Villar, R. Delgado, C. Vergara, et al., *J. Neurosci.* **37** (23), 5736 (2017).
16. A. Nunez-Parra, C. Cortes-Campos, J. Bacigalupo, et al., *Chem. Senses* **36** (9), 771 (2011).
17. Е. В. Бигдай и В. О. Самойлов, *Науч.-технич. ведомости СПбГПУ* **2** (50), 81 (2007).
18. S. Frings and B. J. Lindemann, *Gen. Physiol.* **97** (1), 1 (1991).

19. R. G. Mair, R. C. Gesteland, and D. K. Blank, *J. Neurosci.* **7** (12), 3091 (1982).
20. V. P. M. Menco and A. I. Farbman, *Cell Tissue Res.* **270** (1), 47 (1992).
21. С. А. Панов, Е. В. Бигдай, Б. А. Дудич и др., *Вестн. Рос. военно-медицинской академии* **3** (43), 130 (2013).
22. В. О. Самойлов, Е. В. Бигдай, Э. В. Крыжановский и др., *Биофизика* **58** (2), 269 (2013).
23. Е. В. Бигдай, В. О. Самойлов, Я. Н. Руденко и др., *Биофизика* **53** (6), 997 (2008).
24. Я. Н. Руденко, Е. В. Бигдай и В. О. Самойлов, *Науч.-технич. ведомости СПбГПУ* **2** (50), 90 (2007).
25. Е. В. Бигдай, В. О. Самойлов, С. А. Панов и др., *Цитология* **54** (9), 666 (2012).
26. V. Denis and M. S. Cyert, *J. Cell Biol* **156** (1), 29 (2002).
27. S. J. Kleene, *Chem. Senses* **33** (9), 839 (2008).
28. R. Y. K. Pun and S. J. Kleene, *Biophys. J.* **84** (5), 3425 (2003).
29. R. Y. K. Pun and S. J. Kleene, *J. Physiol.* **559** (2), 535 (2004).
30. R. C. Challis, H. Tian, W. Yin, et al., *PloS one* **11** (3), e0150638 (2016).
31. P. A. Watson, *J. Biol. Chem.* **265** (12), 6569 (1990).
32. Е. В. Бигдай, Д. К. Фуфачев, П. Р. Петров и др., *Биофизика* **62** (2), 311 (2017).
33. Е. В. Бигдай, В. О. Самойлов, В. В. Бекусова и др., *Биофизика* **55** (5), 886 (2010).
34. U. Wolfrum, X. Liu, A. Schmit, et al., *Cytoskeleton* **40** (3), 261 (1998).

Chemosensor and Mechanosensor Functions of Olfactory Cilia

E.V. Bigday and V.O. Samojlov

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034 Russia

In this article, we present a review of modern ideas about olfactory cilia as organelles, possessing not only chemo-, but also mechanosensory properties. Molecular mechanisms of heterogeneity as their olfactory transduction and motor activity have been identified and analyzed. We proposed the hypothesis that explains the mechanism of the highest sensitivity of the olfactory system, to which not only the chemical but also the mechanical properties of the olfactory cilia contribute. The article includes analysis of the literature and experimental data of the authors.

Keywords: olfactory flagella, olfactory transduction, actin, myosin, tubulin, dynein, ion channels