

33. *Striedter G. F.* The telencephalon of tetrapods in evolution. *Brain Behav. Evol.* 1997; 49: 179–213.
34. *Белехова М. Г., Веселкин Н. П.* Телэнцефализация и перемещение функций в центральной нервной системе позвоночных в свете современных данных // *Журнал эволюц. биох. и физиол.* 1985. Т. 21. № 6. С. 531–540.
35. *Обухов Д. К., Цехмистренко Т. А., Пуцина Е. В., Разенкова В. А.* Современные взгляды на эволюцию корковых формаций конечного мозга млекопитающих и птиц // *Морфология.* 2017. Т. 151. № 3. С. 7–15.
36. *Briscoe S. D., Ragsdale C. W.* Evolution of the Chordate Telencephalon. *Current Biology.* 2019; 29:647–662. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.05.026>
37. *Ebbesson S. O. E.* Evolution and ontogeny of neural circuits. *Behav. Brain. Sci.* 1984; 7: 321–366.
38. *Белехова М. Г.* Новое в исследовании эволюции мозга: гипотеза парцелляции // *Журнал эволюц. биох. и физиол.* 1987. Т. 23. № 4. С. 526–537.
39. *Fetcho J. R.* A review of the organization and evolution of motoneurons innervating the axial musculature of vertebrates. *Brain Res. Review.* 1987; 12: 243–280.

УДК 611.018

¹Боровая Т. Г., ²Данилов Р. К.

К ВОПРОСУ О ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ РАЗВИТИЯ РЕЦЕПТОРНОГО ОТДЕЛА СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРА

¹*Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи, Москва, Российская Федерация*

²*Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является представление данных литературы о потенциальной роли органа Келликера в развитии рецепторного отдела слухового анализатора: молекулярных и генетических механизмах инициации сенсорной активности внутренних волосковых клеток в отсутствие звукового воздействия в раннем эмбриогенезе.

Методика работы заключается в анализе и систематизации сведений о тканевых элементах и их ультрамикроскопическом строении, функциональном назначении органа Келликера.

Основные результаты работы показали, что орган Келликера может рассматриваться как провизорное гистологическое образование в эмбриогенезе внутреннего уха.

Ключевые слова: орган Келликера, внутренняя волосковая клетка, деполяризация, эмбриогенез.

¹Borovaya T. G., ²Danilov R. K.

ON THE QUESTION OF HISTOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC ASPECTS OF DEVELOPMENT OF THE RECEPTOR PART OF THE AUDITORY ANALYZER

¹Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russian Federation

²S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to provide literature data on the potential role of the Kölliker organ in the development of the receptor section of the auditory analyzer: the molecular and genetic mechanisms of initiation of sensory activity of inner hair cells in the absence of sound exposure in early embryogenesis.

The methodology of the work consists in the analysis and systematization of information about tissue elements and their ultramicroscopic structure, functional purpose of Kölliker's organ.

The main results of the work showed that the Kölliker organ may be considered as a provisional histological formation in the embryogenesis of the inner ear.

Keywords: Kölliker's organ, inner hair cell, depolarization, embryogenesis.

В эмбриогенезе физиологическая активность рецепторного отдела слухового анализатора (органа Корти) начинается при отсутствии звуковых воздействий и состоит в спонтанном генерировании потенциалов действия внутренних волосковых клеток и афферентных нейронов слуховых путей, поступающих в слуховой центр коры. Иными словами, электрическая активность в незрелом слуховом центре коры является результатом действия слуховой анализаторной системы в отсутствии звука. Это связано с необходимостью сохранения и совершенствования важнейших синаптических связей, которые в эмбриогенезе улитки возникают достаточно рано.

В 2007 году N. X. Tritsch и соавт. сообщили об органе, который может быть ответственен за генерацию спонтанной активности клеток внутреннего уха [1]. Это орган Келликера (ОКр) — медиальная область развивающегося органа Корти, который впервые был описан швейцарским анатомом и физиологом Альбертом фон Келликером (Albert von Kölliker), присутствует в развивающемся органе слуха у самых разных представителей млекопитающих, включая человека [2]; о нём упоминается во многих источниках, включая отечественные издания [3]. Тем не менее, изучению ОКр посвящено небольшое количество исследований.

ОКр — одна из самых ранних видимых клеточных структур в развивающейся слуховой части улитки, которая присутствует временно, пока орган Корти не станет чувствительным к внешнему звуку. После того как это произойдет, ОКр исчезает, превращаясь во внутреннюю борозду улитки. Следует заметить, что ОКр не обладает характерными для органа гистологическими характеристиками. По определению профессора В. Н. Тонкова [4], органом является «часть тела известной формы с определенным строением и функцией, в состав которой входят несколько тканей, из них одна большей частью играет первенствующую роль

(главная ткань)...». Поскольку ОКр представляет собой кластер временно существующих столбчатых клеток, расположенных в непосредственной близости от внутренних волосковых клеток, при последующем изложении материала аббревиатура органа Келликера будет приводиться в кавычках. В международной гистологической и эмбриологической номенклатуре обозначение ОКр отсутствует, хотя в специальной научной литературе является общепринятым.

Итак, по причине локализации «ОКр» рядом с внутренними волосковыми клетками было сделано предположение, что его клетки инициируют спонтанную электрическую активность внутренних волосковых клеток и, таким образом, опосредованно управляют потенциалами действия в слуховых нейронах и слуховых ядрах ствола мозга. В работах на крысах [1] была выявлена спонтанная поляризация клеток «ОКр» и получены свидетельства отсутствия непосредственного участия внутренних волосковых клеток в инициации этих событий. В эмбриогенезе грызунов «ОКр» первоначально появляется в базальном завитке слуховой части улитки и позже распространяется в апикальном направлении [5]. Дифференцированный «ОКр» состоит из плотно расположенных столбчатых эпителиальных клеток (рис. 1), ядра которых находятся на разных уровнях, придавая «ОКр» слоистый вид на сечении [6]. Клетки «ОКр» имеют высоту около 65 мкм и ширину 3–4 мкм, на апикальной поверхности несут микроворсинки. Многими исследователями описана также киноцилия в окружении микроворсинок [7].

Цитоплазма на апикальном полюсе клеток «ОКр» плотная, содержит митохондрии, эндоплазматическую сеть, секреторные везикулы [8]. В «ОКр» клетки связаны щелевыми контактами, придающими ему «синцитиеподобный» вид и построенными из коннексинов 26 (Cx26) и 30 (Cx30) [9]. С патологией или с полным отсутствием синтеза этих изомеров коннексина связывают возникновение врожденной глухоты. По мере созревания органа Корти столбчатые клетки «ОКр» замещаются кубовидными клетками высотой около 10 мкм, образующими внутреннюю борозду органа Корти [6]. В процессе этого перехода увеличивается межклеточное пространство, а количество клеток убывает до 12% от их исходного числа (предположительно, по механизму апоптоза), при этом пограничные и фаланговые клетки апоптозом не затрагиваются [6].

В разных областях «ОКр» обнаруживаются специфические сверхэкспрессируемые гены с исчезающей активностью по мере созревания улитки. Особый интерес в динамике существования «ОКр» представляет сохранение в течение некоторого времени митотической активности его клеток наряду с апоптозом. Обнаруженные в «ОКр» маркеры аутофагии, включая LC3-II, SQSTM1/p62 и Beclin1, дополнили сведения о механизме преапоптотической трансформации и дегенерации клеток «ОКр» в раннем постнатальном периоде. Процесс трансформации клеток «ОКр», по-видимому, очень чувствителен к действию гормонов щитовидной железы, поскольку нарушение становления ее эндокринной функции в эмбриогенезе приводит к длительному выживанию «ОКр» и неправильному формированию структуры органа Корти, в особенности — покровной мембраны [10, 11]. Поскольку на ранних стадиях развития клетки «ОКр» контактируют с покровной мембраной с помощью сети тонких филаментов (которые позже отмирают), было высказано предположение, что материал (отоколлаген и капсидный белок) этой мембраны, работающей как резонансный гель и увеличивающей частотную чувствительность органа Корти, синтезируется и секре-

тируется клетками «ОКр». Экспериментальное введение гормонов щитовидной железы стимулирует превращение высоких столбчатых клеток «ОКр» в клетки кубической формы, постепенно формирующие внутреннюю борозду улитки.

Показано, что импульсы, спонтанно генерируемые клетками «ОКр», слабее и имеют более высокую частотность по сравнению с активностью, наблюдаемой в клетках зрелого органа Корти. В качестве возможного специфического для клеток «ОКр» маркера был предложен *Prdm16* — регуляторный ген, влияющий на экспрессию альфа- и бета-текторина и необходимый для пролиферации клеток «ОКр» [12]. Результаты секвенирования транскриптома РНК, указали на существование разных подтипов клеток «ОКр» [13], располагающихся в разных участках этого органа по длине завитков улитки, существующих в течение разного периода времени и отличающихся разными спектрами генной экспрессии.

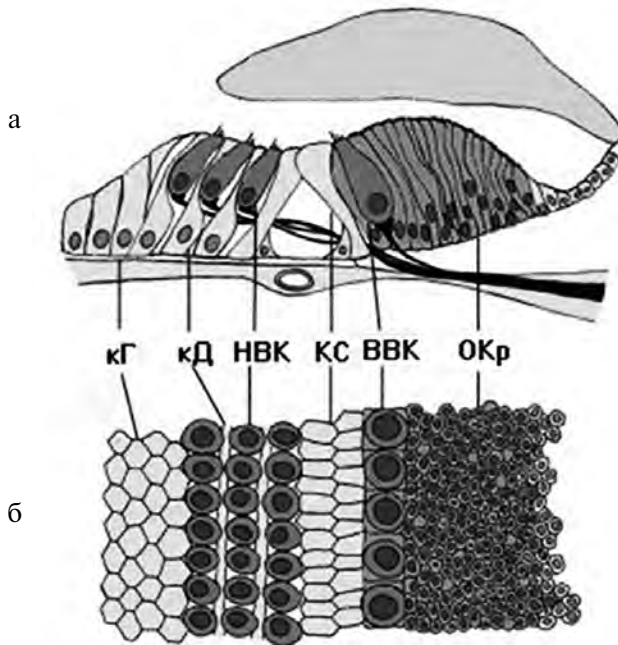


Рис. 1. Схема расположения клеток органа Келликера (в двух проекциях — а и б) в составе «незрелого» органа Корти (по M. W. Nishani Dayaratne et al., 2014 с изменениями).

Обозначения: кГ — клетки Гензена; кД — клетки Дейтерса; НВК — наружные волосковые клетки; КС — клетки-столбы; ВВК — внутренняя волосковая клетка; ОКр — орган Келликера

Хотя точный механизм спонтанной генерации импульсов в слуховой части улитки в отсутствии звукового раздражения остается неясным, предполагается, что это происходит в результате ритмического высвобождения АТФ из клеток «ОКр» через гемиканалы коннексина. Первые указания на возможное участие пуринергического механизма передачи сигналов и генерации спонтанной активности в слуховом нерве принадлежат N. X. Tritsch и соавт. (2007) [1]. Периодическое высвобождение АТФ приводит к активации рецепторов P2X и P2Y на внутренних волосковых клетках, контактирующих с клетками «ОКр», и после-

дующему высвобождению этими клетками глутамата по кальций-зависимому секреторному пути. Нейротрансмиттер глутамат активирует рецепторы на афферентных нервных волокнах, которые иннервируют внутренние волосковые клетки, и возникающие потенциалы действия с пиковой частотой, превышающей 300 герц, проводятся по VIII паре черепно-мозговых нервов в мозг [1, 14–16]. Участие щелевых контактов «ОКр» в генерации спонтанной активности сенсорных волосковых клеток слуховой улитки подтверждается ингибирующим эффектом специфических блокаторов — октанола и карбенексолона [17]. Высвобождающаяся из клеток «ОКр» АТФ далее разлагается под действием эктонуклеотидазы (внеклеточных АТФ-гидролизующих ферментов). В этой связи полагают, что ритм высвобождения АТФ в развивающейся улитке может контролироваться изменением баланса внутриклеточной активности Ca^{2+} и эктонуклеотидазы в клетках «ОКр».

В отличие от пуринергического механизма, предложенного N. X. Tritsch и соавт. (2007), результаты более поздних исследований позволили предположить, что инициация спонтанной активности внутренних волосковых клеток происходит без АТР-индуцированной деполяризации [18]. В пользу этого указывают данные о том, что внутренние волосковые клетки «запускают спонтанные потенциалы действия» в присутствии широко селективных антагонистов рецептора P2 — PPADS и сурамина и в отсутствие субъединицы рецептора P2X4 [19]. Однако, если выброс АТФ клетками «ОКр» не отвечает за генерацию активности внутренних волосковых клеток, то с какой целью в «ОКр» возникает спонтанная пуринергическая активность? Иницирующая роль «ОКр» явно существует, поскольку с началом спонтанной активности и возникновением внутренних токов клетки «ОКр» подвергаются выраженным конформационным изменениям, сопровождающимся увеличением внеклеточных пространств [1]. Это позволяет в реальном времени, визуально регистрируя изменения в показателях оптической плотности клеток «ОКр», обнаруживать его спонтанную активность. Такие оптические изменения происходят с высокой частотой и наблюдаются в разных участках «ОКр» [20]. Подобно спонтанным импульсам, спонтанно генерируемые морфологические изменения клеток «ОКр» ингибируются неселективными антагонистами рецептора P2 (например, сурамином) и активируются при действии АТФ [21].

Хотя прямой связи между дисфункцией «ОКр» и глухотой до сих пор не установлено, нарушения эмбриональной гистологической структуры этого органа, по-видимому, могут быть связаны с основными формами глухоты. Одно из наиболее сильных потенциальных звеньев глухоты у детей лежит в мутациях гена *GJB2*, кодирующего *Cx26* [22]. Клетки «ОКр» активно экспрессируют *Cx26* и *Cx30*, при этом синдромная и несиндромная врожденная потеря слуха связаны с утратой этой экспрессии [23, 24]. Существует предположение, что клетки «ОКр» в качестве предшественников могут дифференцироваться в волосковые клетки и приводить к восстановлению нарушений слуха. В экспериментах показано, что дифференцировка клеток «ОКр» до фенотипа волосковых клеток может быть индуцирована сверхэкспрессией генов *Math1* и *Atoh1*. Вместе с тем, клеток, наделенных потенциалом дифференцировки в волосковые, в составе «ОКр» немного, и скорость их трансформации, вероятнее всего, незначительная [25]. Анализ молекулярно-генетических механизмов развития и функции группы клеток (или

«ОКр»), способных к спонтанной деполяризации и возбуждению сенсорной активности внутренних волосковых клеток, позволяет рассматривать орган Келликера как один из примеров провизорных гистологических образований [26]. Основное предназначение «ОКр» — подготовка нейронной сети слухового анализатора и «тренинг» сенсорных способностей внутренних волосковых клеток перед предстоящим функционированием под воздействием звука. Следует заметить, что явление провизорности рассматривается сегодня рядом отечественных ученых как принцип, характеризующий развитие органов и систем [27].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Tritsch N. X., Yi E., Gale J. E., Glowatzki E., Bergles D. E.* The origin of spontaneous activity in the developing auditory system. *Nature*. 2007; 450(7166):5055.
2. *Kölliker A.* Handbuch der Gewebelehre des Menschen, Engelmann, 1902.
3. Руководство по гистологии / Под ред. Р. К. Данилова. 2-е изд., исп. и доп. СПб.: СпецЛит, 2011. Т. 1. 831 с.; Т. 2. 511 с.
4. *Тонков В. Н.* Учебник нормальной анатомии человека. Л.: Медгиз, 1962. 762 с.
5. *Giebel W., Wei N.* The early postnatal development of the hamster cochlea. *Laryngo-Rhino- Otologie*. 2001; 80(12):725–730.
6. *Hinojosa R.* A note on development of Corti's organ. *Acta Oto-Laryngologica*. 1977; 84(3–4): 238–251.
7. *Zine A., Romand R.* Development of the auditory receptors of the rat: a SEM study. *Brain Research*. 1996; 721(1–2):49–58.
8. *Uziel A., Gabrion J., Ohresser M., Legrand C.* Effects of hypothyroidism on the structural development of the organ of Corti in the rat. *Acta Oto-Laryngologica*. 1981; 92(5–6):469–480.
9. *Cohen-Salmon M., del Castillo F. J., Petit C.* Connexins responsible for hereditary deafness the tale unfolds // *Gap Junctions in Development and Disease*, P.D.E. Winterhager, Ed. Springer, Berlin, Germany, 2005. P. 111–134.
10. *Legrand C., Bréhier A., Clavel M.C., Thomasset M., Rabié A.* Cholecalciferol (28-kDa CaBP) in the rat cochlea. Development in normal and hypothyroid animals. An immunocytochemical study. *Brain Research*. 1988; 466(1):121–129.
11. *Uziel A.* Periods of sensitivity to thyroid hormone during the development of the organ of Corti. *Acta Oto-Laryngologica*. 1986; 102(429):23–27.
12. *Ebeid M., Barnas K., Zhang H., Yagmour A., Noreikaite G., Bjork B. C.* PRDM16 expression and function in mammalian cochlear development. *Dev. Dyn*. 2022. DOI: 10.1002/dvdy.480
13. *Chen J., Gao D., Chen J., Hou S., He B., Li Y., et al.* Single-Cell RNA sequencing analysis reveals greater epithelial ridge cells degeneration during postnatal development of cochlea in rats. *Front. Cell. Dev. Biol*. 2021; 9:719491. DOI: 10.3389/fcell.2021.719491
14. *Forge A., Becker D., Casalotti S., Edwards J., Marziano N., Nevill G.* Gap junctions in the inner ear: comparison of distribution patterns in different vertebrates and assessment of connexin composition in mammals. *Journal of Comparative Neurology*. 2003; 467(2):207–231.

15. *Huang L.-C., Thorne P. R., Vljakovic S. M., Housley G. D.* Differential expression of P2Y receptors in the rat cochlea during development. *Purinergic Signalling*. 2010; 6(2):231–248.
16. *Majumder P., Crispino G., Rodriguez L.* et al. ATP-mediated cell-cell signaling in the organ of Corti: the role of connexin channels. *Purinergic Signalling*. 2010; 6(2):167–187.
17. *Zhao H. B.* Connexin26 is responsible for anionic molecule permeability in the cochlea for intercellular signalling and metabolic communications. *European Journal of Neuroscience*. 2005; 21(7):1859–1868.
18. *Johnson S. L., Kennedy H. J., Holley M. C., Fettiplace R., Marcotti W.* The resting transducer current drives spontaneous activity in prehearing mammalian cochlear inner hair cells. *Journal of Neuroscience*. 2012; 32(31):10479–10483.
19. *Johnson S. L., Eckrich T., Kuhn S.,* et al. Position-dependent patterning of spontaneous action potentials in immature cochlear inner hair cells. *Nature Neuroscience*. 2011; 14(6):711–717.
20. *Landmesser L. T., O'Donovan M. J.* Activation patterns of embryonic chick hind limb muscles recorded in ovo and in an isolated spinal cord preparation. *The Journal of Physiology*. 1984; 347:189–204.
21. *Tritsch N. X., Zhang Y., Ellis-Davies G., Bergles D. E.* ATP-induced morphological changes in supporting cells of the developing cochlea. *Purinergic Signalling*. 2010; 6 (2):155–166.
22. *Hochman J. B., Stockley T. L., Shipp D., Lin V. Y. W., Chen J. M., Nedzelski J. M.* Prevalence of Connexin 26 (GJB2) and Pendred (SLC26A4) mutations in a population of adult cochlear implant candidates. *Otology and Neurotology*. 2010; 31(6):919–922.
23. *Sun Y., Tang W., Chang Q., Wang Y., Kong W., Lin X.* Connexin30 null and conditional connexin26 null mice display distinct pattern and time course of cellular degeneration in the cochlea. *The Journal of Comparative Neurology*. 2009; 516(6):569–579.
24. *Takada Y., Beyer L., Swiderski D.,* et al. Connexin 26 null mice exhibit spiral ganglion degeneration that can be blocked by BDNF gene therapy. *Hearing Research*. 2014; 309:124–135.
25. *Zheng J. L., Gao W. Q.* Overexpression of Math1 induces robust production of extra hair cells in postnatal rat inner ears. *Nat. Neurosci.* 2000; 3:580–586. DOI: 10.1038/75753
26. *Хлопин Н. Г.* Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1964. 491 с.
27. *Соловьев Г. С., Янин В. Л., Пантелеев С. М., Вихарева Л. В., Истомина О. Ф., Богданов А. В., Контарев А. В., Струхина О. В., Смышляева Р. К., Молокова С. А., Галкина Е. М.* Принцип провизорности как универсальный механизм эволюционирования гисто- и органогенезов // *Фундаментальные исследования*. 2005. № 9. С. 32–34.