



# Обоняние

ДЖОН С. ЛЕФФИНГВЕЛЛ  
Leffingwell & Associates, США  
leffingwell@mindspring.com

Текст (<http://www.leffingwell.com/olfaction.htm>) переведен с согласия автора, дается с изменениями и сокращениями

Перевод с английского: С. М. Андреев, e-mail: sandr@online.ru

Вставки в тексте в квадратных скобках: С. М. Андреев

*This review will explore the current status of our understanding of olfaction and provide in some detail the possible molecular interactions that specify odorant signaling.*

## Введение

Способность чувствовать запах, или обоняние — врожденное чувство, присущее и человеку, и большинству животных. С точки зрения эволюции это одно из самых древних свойств организма. Обоняние позволяет позвоночным животным и другим живым существам находить пищу, полового партнера, получать чувственное удовольствие (запах цветов или духов), а также принимать сигналы тревоги (например, испорченная пища, опасные химические вещества). Для людей и животных это один из самых важных способов общения с окружающей средой.

## Общая физиология обоняния

Одоранты — это летучие химические соединения, которые при вдыхании попадают в верхнюю часть носовых ходов, где находится область, называемая *Regio olfactoria* (обонятельный эпителий) (рис. 1) [и специфически взаимодействуют с расположенными там хеморецепторами].

Для того чтобы вызывать запаховые ощущения, одорант должен обладать достаточно высокой летучестью, некоторой растворимостью в водной среде, низкой полярностью, способностью растворяться в жирах (липофильностью) и поверхностной активностью. До настоящего времени неизвестны одоранты с молекулярной массой больше чем 294\* [1].

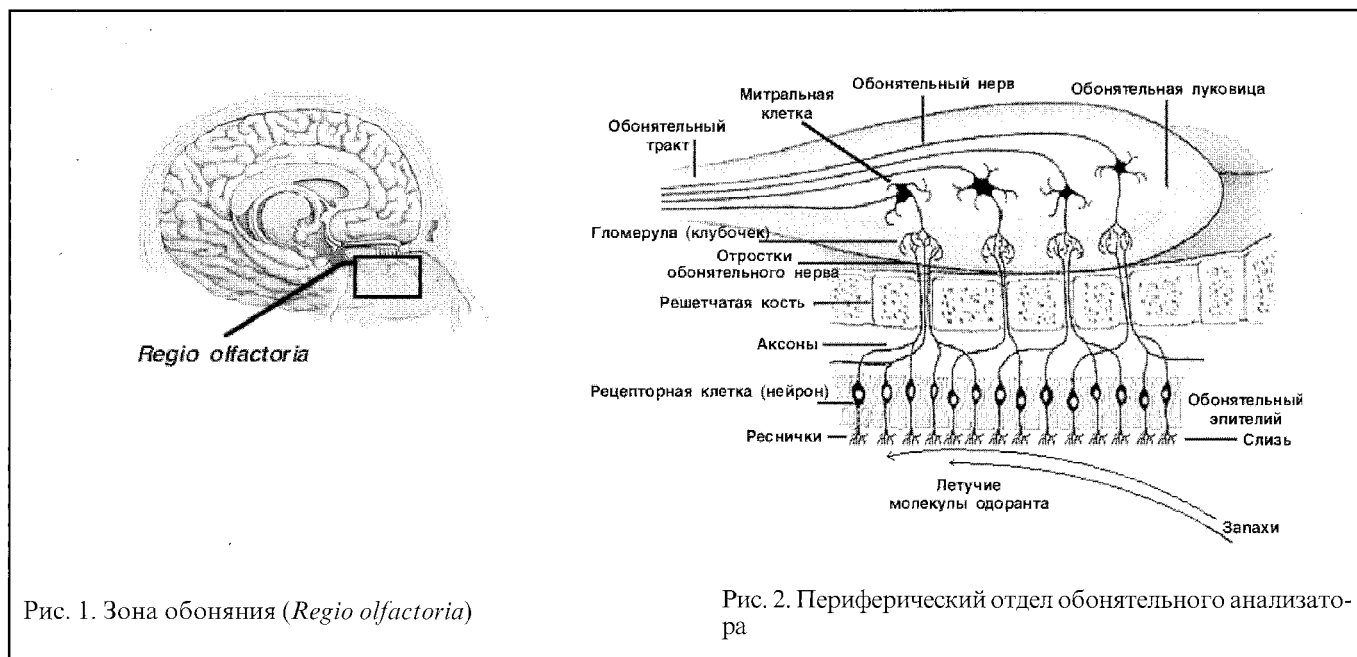
Обоняние позволяет различать очень большое число химических соединений в крайне низких концентрациях [2]. Зона обоняния в каждой из двух носовых полостей у человека занимает небольшую площадь, приблизительно 2,5 см<sup>2</sup>, и содержит около 50 миллионов сенсорных

клеток (нейронов), от которых отходят два отростка — дендрит и аксон (рис. 2). Дендрит несет реснички, которые выходят из слоя обонятельного эпителия и погружаются в слой слизи (толщиной примерно 60 микрон), контактирующий, в свою очередь, с воздухом полости носа [2а]. Слизистый слой состоит из секретируемых липидов и мукополисахаридов, он предохраняет обонятельный эпителий от высыхания, а липиды слизистой помогают транспортировать молекулы одоранта к обонятельным рецепторам. Секреция слизи осуществляется железами Боумена, протоки которых расположены в обонятельном эпителии. Каждая рецепторная клетка несет от 8 до 20 ресничек, длиной от 30 до 200 микрон. Обонятельные реснички — именно то место, где начинается процесс восприятия запаха и передачи сенсорного сигнала под действием одоранта.

Слой эпителия состоит в основном из опорных и базальных клеток. Первые поддерживают нейроны и секретируют слизь, а вторые делятся путем митоза, когда назревает необходимость обновить нейроны вследствие гибели старых. Полное время обновления нейронов составляет примерно 40 дней. Эпителий содержит также пигментированные клетки — светло-желтые у людей, темно-желтые или коричневые у собак. Существовало мнение, что глубина цвета коррелирует с остротой обоняния.

В то время как сенсорные нейроны пронизывают эпителий насквозь, вплоть до контакта с атмосферой, на противоположной стороне эпителия аксональные отростки этих клеток собираются в пучки, в каждом из которых по 10–100 клеток. Они проходят через пластину решетчатой кости, достигая обонятельной луковицы головного мозга, где объединяются на постсинаптических клетках и образуют синаптические структуры, называемые гломерулами, или клубочками. Гломерулы объединяются в группы, из которых информация передается дальше. Например, у кролика 26 000 нейронов образуют 200 клубочков, из которых каждые 25 оканчиваются митральной клеткой. Таким образом, общая конвергенция составляет 1000:1 [3]. С физиологической точки зрения, такая конвергенция увеличивает чув-

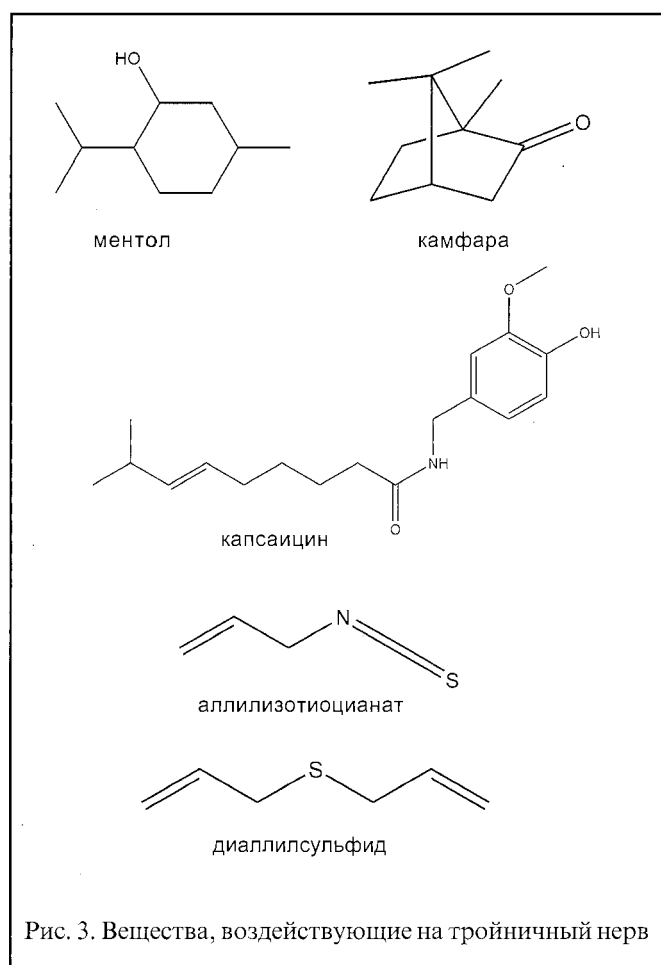
Следует отметить, что автор при этом дает ссылку 1967 г. — Прим. ред.



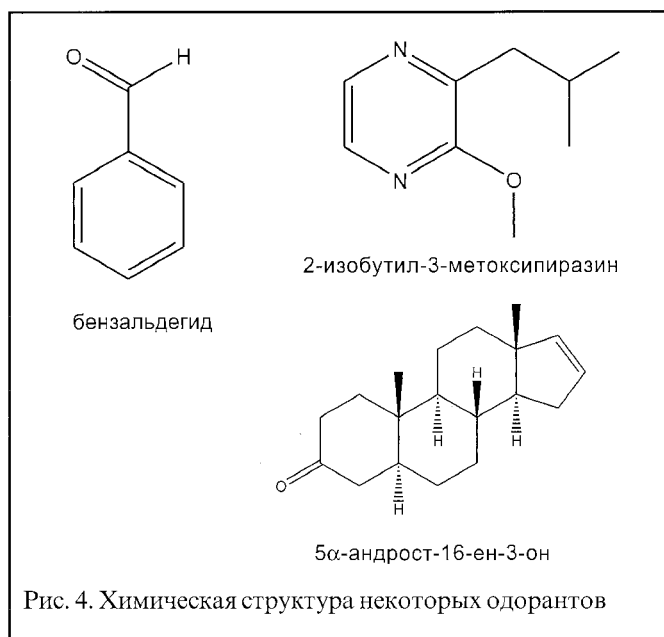
ствительность сенсорного сигнала, посылаемого в мозг. Из митральных клеток сигнал попадает непосредственно в высший отдел центральной нервной системы, где и происходит декодирование сигнала, его сенсорная интерпретация и формирование ответа.

### Рецепция запаха через тройничный нерв

Установлено, что обонятельный эпителий содержит и другую сенсорную систему — рецепторы тройничного нерва. Принимая во внимание, что обонятельная система у человека достаточно ограничена, пятый черепно-мозговой нерв (самый крупный черепно-мозговой нерв, отвечающий за чувствительность лица, зубов, рта, кожи черепа и моторику жевательных мышц) обеспечивает второй набор нервных окончаний, отвечающих за тактильную, компрессионную, болевую и температурную рецепцию в районе рта, глаз и носовой полости. На тройничные рецепторы способны воздействовать многие химические вещества, вызывая ощущения тепла, холода, покалывания, раздражения. Например, левовращающий ментол, (–)-ментол, в умеренных концентрациях вызывает ощущение холода в носовой полости, а при высоких концентрациях — ощущение «горячо». Подобные ощущения часто не ограничиваются областью носа, рта и глаз, а могут распространяться и на другие участки кожи, не имеющие окончаний от пятого черепно-мозгового нерва (особенно область гениталий), так что такие стимуляторы могут давать самые разные эффекты. Камфора, обладающая более сильным запахом, чем ментол, также дает «ощущение холода» при взаимодействии с рецептором тройничного нерва. Предполагается, что около 70% пахучих веществ способны стимулировать эти рецепторы, хотя, в общем, они в несколько раз менее чувствительны, чем обонятельные рецепторы [4].



Другие широко известные агенты, воздействующие на тройничный нерв, включают аллилизотиоцианат (горчица, горчичное масло), капсаицин (острый чилийский перец, мускатный орех) и диаллилсульфид (лук) (рис. 3).



### Белки, взаимодействующие с одорантами

В 1979 году ученые во главе со Стивеном Прайсом (Steven Price) [5] открыли в обонятельном эпителии белок, ответственный за связывание с пахучим веществом — анизолом. В то же время другая команда (Фесенко с соавт.) выделила белок, взаимодействующий с камфорой [6]. С тех пор так называемые «одорант-связывающие белки» (ОСБ) были обнаружены для целого ряда химических соединений, таких, как бензальдегид (вишнево-миндальный запах), 2-изобутил-3-метоксипиразин (запах зеленого перца), 5 $\alpha$ -андрост-16-ен-3-он (запах мочи) (рис. 4)

Роль ОСБ пока еще не вполне понятна. По одной из гипотез эти белки связывают одорант в водно-липидной среде слизистого слоя за счет гидрофобных взаимодействий, повышают его концентрацию и транспортируют к рецептору, расположенному в мембране ресничек. По другой гипотезе эти белки взаимодействуют одновременно с одорантом и с рецептором, способствуя перемещению одоранта через мембрану, причем ОСБ действуют как фильтр, предотвращая насыщение рецептора избытком одоранта.

Роль ОСБ стала яснее в 2000 году, уже после открытия липокалинов\* (*lipocalins*) человека, участвующих в процессах сорбции одорантов. Липокарины — белки-носители для небольших гидрофобных молекул, они содержатся во многих биологических жидкостях. Термин «липокалин» предложен еще в 1987 г., он является про-

\* Эти белки выполняют многие физиологические функции, такие, как транспорт витамина А, одорантов и феромонов, участие в синтезе простагландинов, иммунном ответе, воспалении и процессах детоксикации. Их молекулы имеют три важные особенности: связывают гидрофобные молекулы, связываются с наружными клеточными рецепторами и образуют комплексы с другими макромолекулами в растворе. — Прим. пер.

изводным от греческих слов *lipos* — жир и *calyx* — чаша. Недавно открытый липокалин человека, ОСБ Па, наиболее интенсивно вырабатывается в носовой полости и легких, то есть в структурах дыхательного тракта, а также в слюнной и слезной железах. Другой тип, ОСБ Пв, активен в органах, имеющих отношение к генитальной сфере — в предстательной и молочной железах [6а].

[Взаимодействие рецепторов с мембраной делает их трудным объектом для экспериментального изучения. Поэтому для анализа тонких особенностей взаимодействия одоранта с рецептором в качестве модели рецептора исследователи применили моноклональные антитела (МКА).] В 1988 году получены МКА к простым одорантам — анизолу и бензальдегиду [6б], а в 1999 году ученые из университета Цюриха получили МКА против более сложного гидрофобного соединения, «тразеолида», коммерчески доступного ароматного компонента мускуса — S,S-транс-6-ацетил-1-изопропил-2, 3, 3, 5-тетраметил-индана [6с]. Установлено, что даже такая небольшая молекула может продуцировать широкий набор антител с различной специфичностью. Проведенный рентгеноструктурный анализ кристаллического комплекса тразеолида с антителом при разрешении 2,6 ангстрем показал, что в связывании задействованы исключительно силы Ван-дер-Ваальса. Это исследование впервые продемонстрировало, в чем суть физической природы специфичности молекулы одорантов.

### Обонятельные рецепторы

В 1991 г. Линда Бак (*Linda Buck*) [7] и Ричард Эксел (*Richard Axel*) (см. рис. 5) [8] открыли два семейства трансмембранных белков, которые, как они считали, и являются рецепторами обоняния, а также целый ряд кодирующих их генов. Ими было клонировано и охарактеризовано 18 различных членов этого очень большого семейства, кодирующих «7-спиральные трансмембранные белки» (*7 helical transmembrane proteins*). Экспрессия их происходит исключительно в обонятельном эпителии. Это был явный прорыв в понимании системы обоняния [9]. Все эти белки содержат 7 спиральных сегментов и имеют аминокислотную последовательность, сходную с последовательностями другого семейства рецепторов, сопряженных с G-белками (см. ниже подробности о мембранах и рецепторах, сопряженных с G-белками). Сейчас уже известно примерно 350 генов и 560 псевдогенов\* запаховых рецепторов человека [7, 12f, 12c, 12h]. Такое число генов и псевдогенов, специфичных для системы обоняния, составляет почти 2% из 50 тыс. генов человека. Эта цифра уступает только числу генов рецепторов иммунной системы.

\* Псевдогены — неактивные, но стабильные элементы генома, возникшие в результате мутаций в ранее работавшем гене, имеют поврежденную стоп-кодонами открытую рамку считывания. — Прим. пер.



Линда Бак

Ричард Эксел

Стюарт Файерштейн

Рис. 5. Одни из центральных фигур, проводивших исследование механизма обоняния

Однако до начала 1998 года не существовало прямых доказательств того, что они и в самом деле являются генами, кодирующими рецепторы запаха. И только в январе 1998 года Файерштейн (*Firestein*) с сотрудниками [10] из Колумбийского университета весьма убедительно продемонстрировали, что это действительно так. В обонятельные нейроны крысы они встроили ген, после чего клетки с высокой интенсивностью начали синтезировать молекулы обонятельного рецептора. При подаче одоранта в нейронах генерировался очень сильный электрический импульс, существенно более высокий по сравнению с контролем [11]. Колумбийские ученые использовали два сцепленных гена, один из которых кодировал обонятельный рецептор крысы, называемый *rat 17*, а другой — ген зеленого флуоресцентного белка (GFP). Белок GFP выделяют из светящейся медузы, и он применяется сейчас в молекулярной биологии для маркировки генетически измененных клеток. [Указанные гены вводились с помощью инактивированного аденовируса, который служил им носителем и мог легко проникать в клетки.] Поскольку клетки с геном *rat 17* несли также и ген GFP, можно было отчетливо различать трансформированные клетки по яркому зеленому свечению при облучении их синим светом. Аспирант Файерштейна, Хейкин Жао (*Haiqing Zhao*), работающий сейчас в Медицинской школе Джона Хопкинса (*Johns Hopkins Medical School*), после таких генетических процедур обрабатывал обонятельные нейроны крыс различными одорантами и измерял электрическую активность нейронов, получая «электрооофактограммы». Активность была наивысшей, когда клеткам подавали октаналь — альдегид, запах которого для человека ассоциируется с мясом [12]. Интересно, что большинство ароматдегустаторов и парфюмеров описывают его аромат не как мясной, а скорее как насыщенно-фруктовый с цитрусово-апельсиновым оттенком. В этом исследовании на обонятельных рецепторах было изучено 74 одо-

ранта. Данная работа ответила на давно стоявшие вопросы: может ли отдельный рецептор распознавать различные одоранты, содержит ли отдельный нейрон различные рецепторы [12a]? По всей видимости, чтобы организм мог различать тысячи отдельных запахов, они должны как-то комбинироваться, т. е. один рецептор может реагировать с разными одорантами (но с разной силой) и, наоборот, молекула одоранта может взаимодействовать с разными рецепторами. В результате такой комбинации отдельный запах будет активировать множество гломерул в обонятельной луковице [12b]. Более детально эта проблема обсуждается в конце обзора\*.

### Гены обоняния

[Важную информацию о рецепторах обоняния должны были дать генетические исследования.] В 2000 г. доктор Дорон Ланцет (*Doron Lancet*) со своими коллегами из Вейсмановского Института Наук (*Weizmann Institute of Science Crown Human Genome Center*) создали автоматизированную базу данных для генов обонятельных рецепторов человека [12c, 12h]. [Их цель была найти все гены обоняния в геноме человека, информация о котором стала общедоступной после его расшифровки.] В процессе изучения они отобрали 906 человеческих генов-кандидатов, из которых более 60% были, по-видимому, псевдогенами.

По данным авторов проекта HORDE (*The Human Olfactory Receptor Data Explorer*) гены обоняния присутствуют практически во всех хромосомах человека, за исключением хромосом 20 и Y. Выяснилось, что хромосома 11 содержит их больше всего. Собранные данные очень важны в плане изучения эволюционного древа человека [12d, 12i].

В июне 2001 года сотрудники биотехнологической корпорации *Senomux* Зозуля, Эчеверри и Нгуен (*Zozulya, Echeverri, Nguyen*) опубликовали статью, озаглавленную «*The human olfactory receptor repertoire*» («Репертуар обонятельных рецепторов человека»), в которой они сообщили об идентификации и клонировании 347 полноразмерных рецепторных генов человека. Сравнительный анализ предсказанных последовательностей позволил им установить общие структурные особенности этого громадного семейства рецепторов. Они считают, что спектр найденных [с помощью компьютерного анализа] последовательностей представляет по существу полный репертуар действующих обонятельных рецепторов человека [12f]. Ценно то, что вся информация полностью доступна в интернете, включая и файл со всеми 347 первичными структурами рецепторов [12g].

\* Перевод второй части обзора также будет опубликован в альманахе «Косметика и медицина». — Прим. ред.

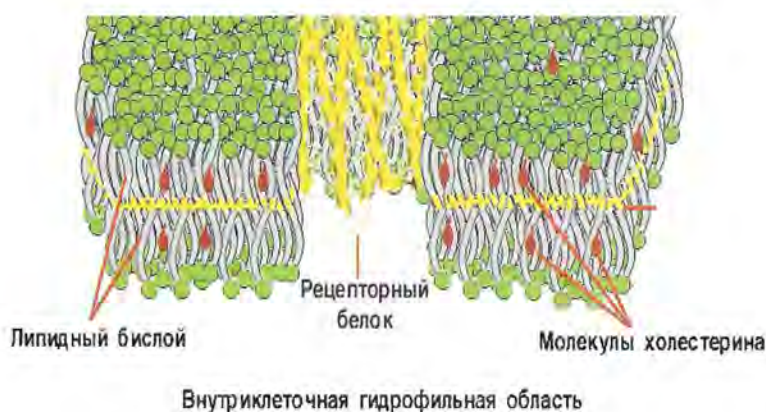


Рис. 6. Срез липидной мембраны с встроенным 7-спиральным рецепторным белком

Еще одна работа, посвященная уже идентификации мышинных генов рецепторов обоняния, появилась в журнале *Nature Neuroscience* от 22 января 2002 года [12]. Используя базу данных генома мыши, созданную корпорацией *Celera*, Стюарт Файерстейн и его сотрудник Ксинмин Жанг (*Stuart Firestein, Xinmin Zhang*) обнаружили в ней 1296 рецепторных генов (включая 20% псевдогенов). Оказалось, что гены человека расположены примерно в тех же участках, что и аналогичные мышинные гены. Все это говорит о том, что обонятельная система человека сохранила способность распознавать широкий спектр веществ несмотря на то, что человек потерял почти две трети рецепторов обоняния по сравнению с мышью.

### Клеточная мембрана с рецептором

Рецепторы обоняния представляют собой белковые структуры, встроенные в клеточную мембрану и сопряженные с G-белками.

На рис. 6 изображена схематично биологическая мембрана со встроенным обонятельным рецепторным белком, спирали которого пересекают липидный бислой 7 раз туда и обратно. Мембрана состоит из фосфолипидного бислоя, на обеих сторонах которой, наружной и внутриклеточной, зеленым цветом обозначены гидрофильные отрицательно заряженные фосфатные группы. «Хвосты» фосфолипидов (углеводородные цепи), ориентированы навстречу друг другу (занимают центральную часть мембраны, обозначены серым цветом) и создают гидрофобное окружение. Такой липидный бислой

непроницаем для крупных молекул, плохо проницаем для заряженных ионов и достаточно проходим для гидрофобных молекул с небольшой молекулярной массой.

Клеточная мембрана представляет собой подвижную текучую структуру толщиной примерно 5 нм. Отдельные фосфолипиды быстро перемещаются вдоль плоскости этого слоя. Например, фосфолипиды бактериальных клеток могут переходить с одной стороны мембраны на другую всего за несколько минут, хотя это расстояние превышает размер их молекул в тысячи раз. Диффузия белков внутри мембраны также происходит, но гораздо медленнее из-за их большого размера.

Холестерин — необходимый компонент клеточных мембран, он помогает разрушать Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия и делать более плотной упаковку липидных хвостов фосфолипидов. [Холестерин увеличивает механическую прочность бислоя. Молекулы холестерина ориентируются в бислой таким образом, чтобы их гидроксильные группы примыкали к полярным головкам фосфолипидных молекул. При этом плоские стероидные кольца молекул холестерина обездвиживают участки углеводородных цепей, непосредственно примыкающих к полярным головкам. Остальные части углеводородных цепей не утрачивают своей гибкости. Холестерин предотвращает слипание и кристаллизацию углеводородных цепей, и таким образом предотвращается резкое уменьшение текучести мембран, которое в противном случае имело бы место при низкой температуре.]

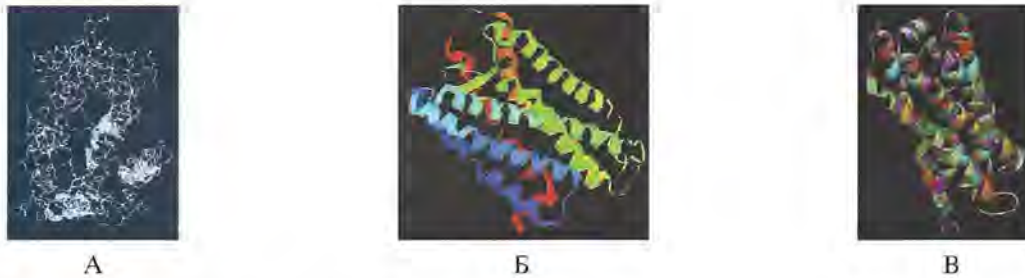


Рис. 7. Трехмерные модели рецепторного белка OR1.01.05

- А: Визуализация сделана с помощью программы *Swiss-Pdb Viewer*. Выделены голубым цветом комплементарные участки на спиральных 3, 4 и 5, связывающие одорант.  
 Б: Визуализация с помощью программы *Chime*.  
 В: Визуализация с помощью программы *Weblab Viewer*

## Рецепторы, сопряженные с G-белками

Рецепторы, сопряженные с G-белками (*G-protein-coupled receptors, GPCR*), имеют очень древнее происхождение [13]. Они присутствуют даже у таких примитивных созданий, как плоские черви. Система GPCR относится к семейству фармакологически важных белков, для нее сейчас известно порядка 450 генов. В свою очередь, рецепторы обоняния являются одной из самых больших групп GPCR, описанных к настоящему времени. Эти рецепторы индуцируют синтез нейротрансмиттеров, циклоаденозинмонофосфата (цАМФ) и инозитолтрифосфата, вызывающих открытие катионных каналов и, в конечном счете, возникновение потенциала действия\* и передачу сенсорного сигнала [14].

Чтобы представить зрительно структуру обонятельного рецептора (рис. 7), мы построили компьютерную модель человеческого рецептора OR1.01.05 (номенклатура корпорации *Senomyx*) на основе гомологии с молекулой родопсина\*\*. Имея возможность моделировать трехмерные структуры, исследователи уделили большое внимание анализу участков контакта рецептора с одорантом, т. е. комплементарной области [14b–14d]. Док-

\* Потенциал действия — быстрое изменение или сдвиг мембранного потенциала, в результате чего возникает нервный электрический импульс, передаваемый аксоном. — Прим. пер.

\*\* Применение компьютерных моделей связано с тем, что пока невозможно получить кристаллы этих белков, а следовательно, провести рентгеноструктурный анализ их пространственной структуры. Это обусловлено тем, что нельзя отделить белки от мембран, не разрушив их структуру. Чтобы выйти из этой ситуации, в базе данных белковых структур (*SwissProt/ExPASy*) отыскивают белки с подходящей гомологией по аминокислотной последовательности и с уже установленной трехмерной структурой, а затем, используя их как матрицу, проводят расчет новой структуры и строят трехмерную модель на компьютере. Для просмотра моделей белков разработаны специальные программы визуализации (*viewer*). — Прим. пер.



Source: <http://rodin.ehp.ucsf.edu/online/infbio01/lanct1/>

Рис. 8. Относительная локализация спиральных сегментов обонятельного рецептора и его одорант-связывающего участка (*Pipel & Lancet, Protein Science 1999*)

тор Ланцет (*Lancet*) с сотрудниками пришли к заключению, что у рецепторных белков комплементарная область расположена в трансмембранных сегментах 3, 4, и 5 [14b] (рис. 8).

Однако Сингер (*Singer*) в своей статье «Анализ молекулярных механизмов взаимодействия октаняля с обонятельным рецептором *rat 17*» [14c] делает особый акцент на том, что октаняль связывается с рецепторной полостью (размером ~10 ангстрем), расположенной в доменах 3–7 на поверхности клетки. Результаты моделирования показывают, что аминокислотные остатки трансмембранных спиралей 3, 5, и 6 непосредственно участвуют в связывании, а спираль 4 может также играть важную роль, т. к. она расположена напротив спирали 3 и 5 и поэтому может изменять свое положение, если ключевые остатки спирали 4 подвергаются мута-



ции. Присутствие важного остатка *Lys* (лизин) в спирали 7 сходно с расположением той же аминокислоты у родственного белка родопсина, где *Lys-296* (спираль 7) связывает хромофор ретиналь [14e]. Замена этого остатка может изменить специфичность рецептора и переключить его на распознавание других функциональных групп.

### G-белки

G-белки называются так потому, что они связывают гуанозинтрифосфат, ГТФ (GTP). Фактически G-белки представляют собой устройства, передающие сигнал (после получения стимула извне) от рецептора внутрь клетки через молекулы ферментов-посредников и ионные каналы\*. После связывания одоранта с рецепторным белком сопряженный с ним G-белок передает сигнал аденилатциклазе, фосфолипазе C,  $K^+$ -каналам и другим эффекторам.

На рис. 9 изображена модель трансмембранного 7-спирального рецепторного белка (сверху) и сопряженного с ним G-белка (внизу) в его тримерной форме (слегка модифицированная модель из лаборатории Бурне (*Bourne lab*: <http://www.cmp Pharm.ucsf.edu/bourne/index.html>)). Хорошо видно, как взаимодействуют аминокислотные остатки (красный и желтый цвет), входящие в  $\beta$ - и  $\alpha$ -субъединицы G-белка (голубой и серый цвет соответственно). Эти субъединицы играют важную роль в связывании и высвобождении гуанозиндифосфата (ГДФ) (выделен зеленым цветом в центре  $\beta$ -субъединицы). Клеточная мембрана на рисунке изображена в виде двух желтых решетчатых полос. Следует отметить, что исследователи из Университета Вирджинии, Онейл и Гришем (*O'Neil & Grisham*) создали отличную динамичную модель G-белка в режиме интерактивной графики под названием «*G Protein molecular nanomachine*».

### Сигнальный каскад, опосредованный цАМФ

Установлено, что основная передача рецепторного сигнала происходит через посредство молекулы цАМФ (циклический аденозинмонофосфат). Рецептор обоняния, связывая одорант, изменяет свою форму и взаимодействует с G-белком. G-белки построены из трех субъединиц:  $\alpha$ -субъединица выполняет активную роль,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы — регуляторные функции. В неактивном состоянии  $\alpha$ -субъединица связана с молекулой ГДФ (гуанозиндифосфат).

\* Каналы — это особые мембранные белки, формирующие в мембране поры, через которые осуществляется транспорт ионов. При открывании и закрывании ионных каналов изменяется распределение зарядов и происходит сдвиг мембранного потенциала; передача сигналов некоторыми клетками зависит от каналов с регулируемой проницаемостью — так называемых каналов с воротами. — *Прим. пер.*

G-белки являются не рецепторами, а посредниками второй стадии сигнального процесса. Цикло-АМФ контролирует открытие ионных каналов, управляя электрофизиологическим состоянием нейронов в ответ на обонятельный стимул. Когда обонятельный рецептор взаимодействует с G-белком, ГДФ отделяется от  $\alpha$ -субъединицы и с ней связывается ГТФ. При этом формируется активное состояние («включено»). Как только  $\alpha$ -субъединица связала ГТФ, она отходит от  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц, соединяется с ферментом аденилатциклазой и активирует ее. Активированная аденилатциклаза превращает аденозинтрифосфат (АТФ) в нейротрансмиттер цАМФ (рис. 10).

Цикло-АМФ, чья внутриклеточная концентрация сильно увеличивается после работы аденилатциклазы, работает как внутриклеточный гормон («вторичный мессенджер», *second messenger*). Он распространяется по цитоплазме, активирует ионные белковые каналы (иногда говорят — насосы) и открывает доступ ионам  $Ca^{++}$  через клеточную мембрану в нейрон. После этого нейрон генерирует сигнал в виде мембранного потенциала и электрического сигнала (специалисты говорят — генерация «спайка», от англ. *spike potential* — пиковый потенциал), что, в конечном счете, и представляет собой перенос хемосенсорной информации через аксон в обонятельную луковицу. Затем концентрация цАМФ уменьшается, т. к. он гидролизует до АМФ (аденозинмонофосфат).

Возврат G-белка в неактивное состояние осуществляется следующим путем:  $\alpha$ -субъединица G-белка является ферментом, гидролизующим ГТФ до ГДФ в процессе активации аденилатциклазы. Таким образом,  $\alpha$ -субъединица эффективно блокирует собственную активность. Как только ГТФ гидролизует до ГДФ,  $\alpha$ -субъединица опять комплексуется с  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепями, а G-белок возвращается в неактивное состояние.

### Ионные каналы

Как уже упоминалось, взаимодействие рецептора с одорантом активирует G-белок и затем аденилатциклазу, что приводит к повышению внутриклеточного цАМФ в обонятельных клетках. Такие последовательные процессы называют каскадными. Появление ионного тока после непосредственной активации катионного канала циклическим АМФ является конечным этапом процесса, начало которому дало пахучее вещество. В присутствии нормальной физиологической концентрации внеклеточного кальция  $Ca^{++}$  вторичный мессенджер (т. е. цАМФ) индуцирует открытие канала и ток ионов  $Ca^{++}$  внутрь клетки. Повышение внутриклеточной концентрации  $Ca^{++}$ , по-видимому, активирует ток ионов хлора, что приводит к деполяризации обонятельных клеток и последующей передаче сигнала [15, 16].

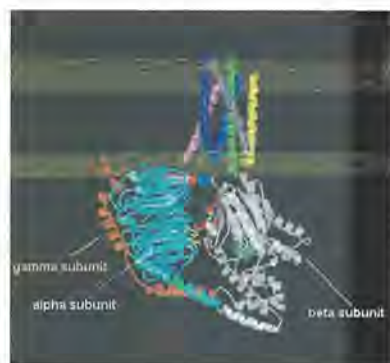


Рис. 9. G-белок и сопряженный с ним рецептор обоняния (GPCR) в клеточной мембране

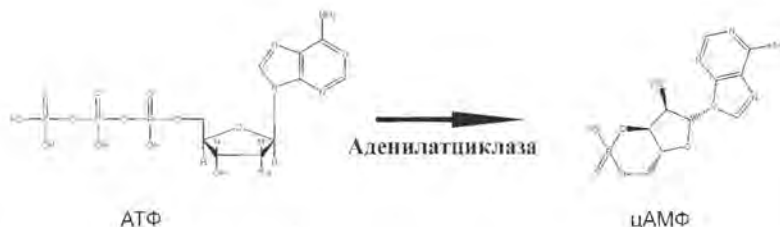


Рис. 10. Превращение АТФ в цАМФ под действием аденилатциклазы

## Другие вторичные мессенджеры

У некоторых позвоночных животных запахи стимулируют быстрое увеличение концентрации как инозитолтрифосфата (ИТФ), так и цАМФ. Это указывает на то, что существуют два различных пути прохождения сигнала в обонятельных нейронах. Например, одоранты цитраль и эвгенол повышают уровень цАМФ, в то время как другие — лираль, лилиаль и этилванилин — повышают концентрацию ИТФ [16].

### Инозитолтрифосфат

Таким образом, вторичный мессенджер, ИТФ, активно участвует в передаче сигнала запаха у млекопитающих. ИТФ-зависимый каскадный механизм в общих чертах сходен с тем, что описан выше для цАМФ-зависимого, но в химическом плане он имеет заметные отличия. В 1998 году Брир (*Breer*) с соавт. [18] установили, какой тип G-белка активируется при стимуляции изолированных обонятельных ресничек различными одорантами. Их результаты свидетельствуют о том, что отдельные одоранты запускают свои, специфические, каскады реакций, указывая на параллельные сигнальные пути в рецепции запаха. Один путь связан с генерацией цАМФ, другой — с генерацией ИТФ и диацилглицерина (ДАГ) [19]. Как ИТФ, так и ДАГ способны непосредственно влиять на уровень внутриклеточного кальция  $Ca^{++}$ . Таким образом, ясно, что системы, опосредованные цАМФ- и ИТФ/ДАГ, могут сосуществовать в одной и той же клетке, но активироваться разными одорантами [20]. Они могут даже иметь противоположные эффекты, т. к. повышение уровня кальция можно осуществлять путем активации  $Ca^{++}$ -зависимых  $K^+$ -каналов, что может сильно поляризовать клетку, замедлить или вообще блокировать прохождение сигнала.

### цГМФ

В сигнальном каскаде, опосредованном цАМФ, задействован также другой циклический нуклеотид — цГМФ (циклический гуанозинмонофосфат) [17]. Одоранты вызывают медленное, но продолжительное нарастание его уровня. Допускается, что частично это обусловлено активацией одной из двух рецепторных гуанилатциклазами кальция. Образующий цГМФ усиливает действие цАМФ путем активации аденилатциклазы, а цАМФ, наоборот, подавляет активность гуанилатциклазы и тем самым ограничивает эффекты цГМФ (см. роль окиси углерода).

### Окись азота и окись углерода

Окись азота (NO) и окись углерода (CO), по-видимому, играют определенную роль в системе обоняния. NO оказывает существенное влияние на биологию синапсов различных отделов мозга вследствие его влияния на уровень цГМФ. За синтез NO ответственен фермент нитрооксидсинтаза (НОС). Например, у овец НОС вырабатывается в нейронах, митральных клетках и клубочках, в то время как субъединицы гуанилатциклазы, требуемые для стимуляции синтеза цГМФ, вырабатываются только в митральных клетках. Окись азота действует, по-видимому, как тормоз и внутриклеточный мессенджер, выделяясь из митральных и «клеток-зерен», она влияет на уровень цГМФ и усиливает выброс глутамата из митральных клеток. Исходя из этого, Кендрик (*Kendrick*) [21] предположил, что эффекты, формируемые в обонятельной луковице, влияют на функцию памяти к запахам. Это также согласуется с данными Окир (*Okere*) и соавт. [22], которые продемонстрировали, что введение окиси азота самкам мышей в район обонятельной луковицы может индуцировать специфич-





ческую память на запах феромона, даже если не было спаривания (активность их синапсов меняется под действием феромонов после спаривания). Кроме того, NO выполняет важную функцию в установлении активных контактов при развитии и регенерации обонятельных нейронов [23].

Эксперименты показали, что СО также может выполнять функции нейронного мессенджера, имеющего влияние на продукцию цГМФ, вовлеченного в процессы прохождения обонятельного сигнала в нейрон [24]. Обнаружено, что сигналы от эндогенного СО/цГМФ вносят свой вклад в обонятельную адаптацию, влияют на уровень запахового сигнала и чувствительность восприятия.

Таким образом, описанные исследования проливают свет на механизм того, как может одиночный кратковременный контакт с одорантом преобразоваться в длительно протекающие внутриклеточные процессы, как сигнал от одоранта проходит в центральную нервную систему, преобразуясь в ощущение запаха [25].

В следующем номере будет опубликована 2-я часть статьи «Обоняние», где будут рассмотрены теории запаха и последние новости на этом фронте.

## Литература

### (оформление ссылок дано по оригиналу)

- Demole, E., H. Wuest, Synthèses stéréosélectives de deux trioxydes  $C_{18}H_{30}O_3$ , stéréoisomères, d'ambreinolide et sclaréol-lactone a partir de dérivés du (+)-manool. *Helv. Chem. Acta*, 50: 1314 (1967).
- Ohloff, G., *Scent and Fragrances*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1994.
- The diagrams of the «Olfactory Region» and the «Olfactory Bulb» are adapted from a drawing that appears at <http://www.sciencenet.org.uk/database/Social/Senses/s00122b.html>.
- <http://www.cf.ac.uk/uwcc/momed/jacob/index.html>.
- Ohloff, G., *Scent and Fragrances*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1994, p. 6.
- Goldberg S., J. Turpin and S. Price, Anisole binding protein from olfactory epithelium evidence for a role in transduction, *Chem. Senses & Flavour*, 4:207 (1979).
- Fesenko E.E., V.I. Nonoselov and L.D. Krapivinskaya, Molecular mechanisms of olfactory reception, *Biochem. Biophys. Acta*, 587:424 (1979).
- Lacazette E, Gachon AM, Pitiot G., A novel human odorant-binding protein gene family resulting from genomic duplicons at 9q34: differential expression in the oral and genital spheres, *Hum Mol Genet*, Jan 22;9(2):289-301 (2000).
- Price, S., Willey, A., Effects of antibodies against odorant binding proteins on electrophysical responses to odorants, *Biochem Biophys Acta*, 965: 127ff (1988).
- Langedijk AC, Spinelli S, Anguille C, Hermans P, Nederlof J, Butenandt J, Honegger A, Cambillau C, Pluckthun A., Insight into odorant perception: the crystal structure and binding characteristics of antibody fragments directed against the musk odorant traseolide, *J Mol Biol* 1999 Oct 1;292(4):855-69.
- Linda Buck: Information Coding in the Olfactory System, <http://www.hhmi.org/science/neurosci/buck.htm>.
- Richar Axel: The Molecular Logic of Olfaction, <http://www.hhmi.org/science/neurosci/axel.htm>.
- Buck, L. and R. Axel, A novel multigene family may encode odor recognition: a molecular basis for odor recognition, *Cell*, 65:175 (1991).
- <http://www.columbia.edu/cu/biology/faculty/firestein/index.html>.
- Zhao, H., L.Ivic, J.M. Otaki, M. Hashimoto, K. Mikoshiba, S. Firestein, Functional expression of a mammalian odorant receptor. *Science*, Jan 9;279(5348):237-242 (1998).
- Columbia University Record, 23(12), Jan.23, 1998; <http://www.columbia.edu/cu/record/23/12/16.html>.
- Travis, John. Making Sense of Scents, *Science News*, April 10, 1999, Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB; Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, Mar 5;96(5):713-23 (1999); <http://www.hhmi.org/news/buck.htm>.
- Ronhi, A. Maureen, *Chemical & Engineering News*, Dec. 23, 1996.
- Glusman G., Bahar A., Sharon D., Pilpel Y., White J, *Lancet D.*, The olfactory receptor gene superfamily: data mining, classification, and nomenclature., *Mamm. Genome*, Nov;11(11):1016-23 (2000).
- Lancet, Doron, et al., Molecular recognition and evolution in biological repertoires: from olfaction to the origin of life (2000) at <http://www.weizmann.ac.il/Biology/open-day/images/lancet.pdf>.
- Sergey Zozulya, Fernando Echeverri & Trieu Nguyen, The human olfactory receptor repertoire, *Genome Biology* 2001 2(6): research0018.1-0018.12.
- Zozulya, et. al. <http://www.genomebiology.com/2001/2/6/research/0018/gb-2001-2-6-research0018-S1.asp>.
- Glusman G, Yanai I, Rubin I, *Lancet D.*, The complete human olfactory subgenome, *Genome Res*. 2001 May;11(5):685-702.
- Fuchs T, Glusman G, Horn-Saban S, *Lancet D.*, Pilpel Y, The human olfactory subgenome: from sequence to structure and evolution. *Hum Genet* 2001 Jan;108(1):1-13.
- Zhang X, Firestein S., The olfactory receptor gene superfamily of the mouse, *Nat Neurosci.*, Feb;5(2):124-133 (2002).
- Rice, Ken, The Evolution and Classification of G-protein-coupled Receptors, <http://www.cis.upem.edu/~krice/receptor.html> (1998).
- Anholt, R.R., Molecular neurobiology of olfaction, *Crit. Rev. Neurobiol.* 7(1): 1-22 (1993).
- Pilpel, Y. and D. Lancet. The variable and conserved interfaces of modeled olfactory receptor proteins., *Protein Sci.*, May;8(5):969-77 (1999).
- Singer, Michael S., Analysis of the Molecular Basis for Octanal Interactions in the Expressed Rat I7 Olfactory Receptor, *Chem. Senses* 25: 155-165, (2000).
- Floriano WB, Vaidehi N, Goddard WA 3rd, Singer MS, Shepherd GM., Molecular mechanisms underlying differential odor responses of a mouse olfactory receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, Sep 26;97(20):10712-6 (2000).
- Singer, M. S., Weisinger-Lewin, Y., *Lancet*, D. & Shepherd, G. M., Positive selection moments identify potential functional residues in human olfactory receptors., *Recept. Channels* 4, 141-147 (1996)
- Leffingwell & Associates, Canton, GA, Press Release, February 13, 2002; Leffingwell, J.C., manuscript in preparation.
- Teller, D. C., Okada, T., Behnke, C. A., Palczewski, K., Stenkamp, R. E.: Advances in Determination of a High-Resolution Three-Dimensional Structure of Rhodopsin, a Model of G-Protein-Coupled Receptors (Gpers) *Biochemistry* 40 pp. 7761 (2001).
- Palczewski, K., Kumasaka, T., Hori, T., Behnke, C. A., Motoshima, H., Fox, B. A., Le Trong, I., Teller, D. C., Okada, T., Stenkamp, R. E., Yamamoto, M., Miyano, M.: Crystal Structure of Rhodopsin: A G Protein-Coupled Receptor *Science* 289 pp. 739 (2000).
- Edelsbrunner H, Facello M, Liang J. On the definition and the construction of pockets in macromolecules. *Disc. Appl. Math.* 88:83-102 (1998).; Liang J, Edelsbrunner H, Woodward C., Anatomy of protein pockets and cavities: measurement of binding site geometry and implications for ligand design. *Protein Science*. 7:1884-1897 (1998).; J. Liang, H. Edelsbrunner, P. Fu, P.V. Sudhakar and S. Subramaniam., Analytical shape computing of macromolecules I: molecular area and volume through alpha shape. *Proteins*. 33, 1-17 (1998).; Liang J, Edelsbrunner H, Fu P, Sudhakar PV, Subramaniam S., Analytical shape computation of macromolecules. II. Identification and computation of inaccessible cavities in proteins. *Proteins: Struct. Funct. Genet.* 33:18-29 (1998); <http://east.engr.uic.edu/cast/>
- Kurahashi, T. and K.W. Yau, Co-existence of cationic and chloride components in odorant-induced current of vertebrate olfactory receptor cells, *Nature*, May 6, 363(6424):71-74 (1993).
- Schild, D. and D. Restrepo, Transduction mechanisms in vertebrate olfactory receptor cells, *Physiol. Rev.*, 78(2):429-466 (1998).



17. Moon, C., P. Jaber, A. Otto-Bruc, W. Behr, K. Palczewski and G. V. Ronnett, Calcium-sensitive particulate guanylyl cyclase as a modulator of cAMP in olfactory receptor neurons, *J. Neurosci.*, 18(9): 3195-3205 (1998).
18. Jia, C. P. and M. Halpern, Subclasses of vomeronasal receptor neurons: Differential expression of G proteins (*Gia2* and *Goa*) and segregated projections to the accessory olfactory bulb. *Brain Res.* 719, 117-128 (1996); and Schandar M., K.L. Laugwitz, I. Boekhoff, C. Kroner, T. Gudermann, G. Schultz, H. Breer, Odorants selectively activate distinct G protein subtypes in olfactory cilia., *J. Biol. Chem.*, Jul 3; 273(27):16669-16677 (1998); Breer H, Boekhoff I, Second messenger signalling in olfaction. *Curr Opin Neurobiol* 2:439-443 (1992); Schild D, Restrepo D, Transduction mechanisms in vertebrate olfactory receptor cells. *Physiol Rev* 78:429-466 (1998).
19. See also <http://www.monell.org/neuroscience.htm>.
20. Kashiwayanagi, M., K. Shimano, K. Kurihara, Responses of single bullfrog olfactory neurons to many odorants including cAMP-dependent and independent odorants: existence of multiple receptors in single neuron. *Brain Res.* 738, 222-228 (1996). See also [http://www.anachem.umu.se/mirrors/CCAB97/1st/mini\\_review/mr008/kashiwayanagi.html#references](http://www.anachem.umu.se/mirrors/CCAB97/1st/mini_review/mr008/kashiwayanagi.html#references).
21. Kendrick K.M., R. Guevara-Guzman, J. Zorrilla, M.R. Hinton, K.D. Broad, M. Mimmack, S. Ohkura, Formation of olfactory memories mediated by nitric oxide. *Nature*, Aug 14;388(6643):670-674 (1997).
22. Okere, C.O., H. Kaba, T. Higuchi, Formation of an olfactory recognition memory in mice: reassessment of the role of nitric oxide. *Neuroscience*, Mar;71(2):349-354 (1996).
23. Roskams A.J., D.S. Bredt, T.M. Dawson, G.V. Ronnett, Nitric oxide mediates the formation of synaptic connections in developing and regenerating olfactory receptor neurons., *Neuron*, Aug;13(2):289-299 (1994).
24. Ingi T, Ronnett GV, J Direct demonstration of a physiological role for carbon monoxide in olfactory receptor neurons. *Neurosci.*, Dec;15(12):8214-8222 (1995).
25. Zufall, F., T. Leinders-Zufall, Identification of a long-lasting form of odor adaptation that depends on the carbon Monoxide/cGMP second-messenger system. *J. Neurosci.*, Apr 15;17(8):2703-2712 (1997).

## Справочная информация к статье «Обоняние»

Составитель: к. б. н. Виктория Гулимова (см. статью «Запах и подсознание: влияние обонятельных стимулов на эмоциональное восприятие и поведение человека», опубликованную в этом номере, стр.6–23)

Воздействие одорантов у животных может восприниматься пятью рецепторными системами: основным органом обоняния, дополнительной или вомероназальной системой, терминальным нервом, ветвями тройничного нерва, а также органом Мазера, открытым недавно и пока малоизученным. Основной орган обоняния состоит из периферической части, включающей обонятельный, или рецепторный, эпителий (ОЭ), и обонятельный нерв. К центральному отделу традиционно относят обонятельную луковицу (ОЛ) и обонятельный мозг (зоны проекции ОЛ в переднем мозге), который является частью лимбической системы. ОЭ расположен в верхней части носовой перегородки и покрывает верхнюю носовую раковину. Он представляет собой псевдомногослойный эпителий, клетки которого расположены в один ряд, а их ядра — на разных уровнях, что создает иллюзию многослойности. Ряд состоит из трех типов клеток: 1) чувствительных или рецепторных (обонятельных нейронов), 2) опорных или поддерживающих эпителиоцитов и 3) базальных клеток. Вомероназальный эпителий имеет сходное строение, однако рецепторы его отличаются от основных обонятельных и лежат не в носовых ходах, а в маленьких кармашках вомероназального органа (ВО), расположенных по бокам носовой перегородки в ее основании.

**Рецепторная клетка** имеет тело и два отростка — аксон и дендрит. Поверхность дендрита обращена в полость носа (если это основной ОЭ) или в полость вомероназального органа (ВО). Она может формировать выпячивание (так называемую обонятельную булаву) и покрыта длинными подвижными ресничками (в ОЭ) или неподвижными тонкими выростами — микровиллами (в ВО). На этих выростах расположены рецепторы. По-видимому, в ОЭ также есть чувствительные микровиллярные клетки, а в ВО — ресничные, хотя и в небольшом количестве. Функциональная разница между ними состоит в том, что ресничные клетки воспринимают обычные запахи, а микровиллярные — неосознаваемые, обладающие способностью направленно влиять на половое, родительское и социальное поведение. Аксоны рецепторных клеток собираются в пучки обонятельного и вомероназального нервов. Эти нервы иногда называют безмиелиновыми, что не совсем точно: их волокна имеют миелиновую оболочку, но она значительно тоньше, чем у большинства других нервов. По аксонам сигнал передается из ОЭ в основную ОЛ, а из нее по обонятельному тракту в переднее обонятельное ядро и структуры лимбической системы (ЛС). От рецепторов ВО информация направляется в дополнительную ОЛ, из которой попадает в миндалу.

**Опорные клетки**, помимо чисто механической функции, секретируют слизь и, возможно, участвуют в переносе одорантов.

**Базальные клетки** остаются недифференцированными и обладают способностью к делению — с их помощью обновляются рецепторные и опорные клетки.

Сквозь ОЭ проходят и открываются в полость носа протоки трубчатого альвеолярного (Боуменовых) желез, которые выделяют слизь, содержащую мукопротеиды. Слизь увлажняет поверхность рецепторного эпителия и является жидкой средой, в которой растворяются молекулы одорантов.

ОЭ у большинства животных отличается по цвету от респираторного. Последний обычно розоватый, а ОЭ может быть даже черным с золотом (у рыб) или бурым (у амфибий). У большинства млекопитающих и человека он желтовато-коричневый, у птиц — желтый. Эта окраска может быть связана с наличием пигмента в клетках ОЭ или боуменовых желез, но не исключено и то, что цвет ОЭ обусловлен липоидными гранулами, содержащимися в апикальных частях опорных клеток. По-видимому, окраска ОЭ и острота обоняния между собой не связаны, хотя существуют и альтернативные точки зрения.

ОЛ построены по типу коры больших полушарий головного мозга и состоят из концентрически расположенных шести слоев клеток:

- 1) слой обонятельных волокон (состоит из аксональных пучков, образованных выростами рецепторных клеток;
- 2) клубочковый слой. Состоит из структур, напоминающих по внешнему виду клубочки, образованные окончаниями аксонов чувствительных клеток, наружными клетками-зернами, а также окончаниями митральных клеток и клеток с султанами;
- 3) наружный сетевидный (плексиформный) слой. Образован дендритами митральных клеток и клетками с султанами;
- 4) слой тел митральных клеток. Кроме них содержит отростки внутренних клеток-зерен;
- 5) внутренний плексиформный слой. Состоит из аксонов митральных клеток и клеток с султанами, а также из отростков внутренних клеток-зерен;
- 6) слой мякотных волокон и внутренних клеток-зерен. Волокна, выходящие из ОЛ по направлению к мозгу, образуют обонятельный тракт. По нему сигналы передаются в ЛС — комплекс структур переднего и промежуточного отделов мозга, составляющих субстрат эмоционально обусловленного врожденного поведения.