

Теория обоняния

Обоняние – первое из чувств, появившееся у живых существ задолго до развития зрения и слуха. Поэтому корковые центры этого анализатора находятся у человека в древнейшей части головного мозга – в обонятельном мозге, в т.н. извилине морского коня и в аммониевом роге.

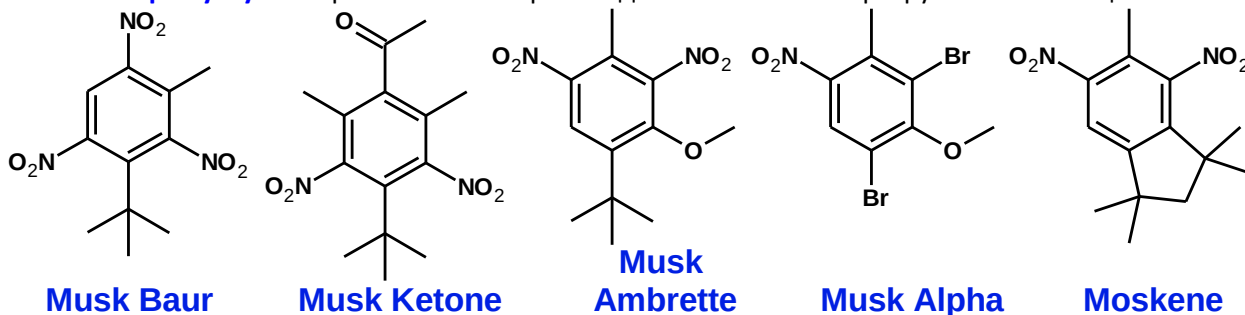
В отличие от животных, человек получает 90% информации через зрение, 5% – через слух, и только 2% – через обоняние. Но обоняние у человека «атрофировалось» в процессе эволюции.

Огромной проблемой при изучении обоняния (в отличие от зрения и слуха) является то, что **НЕ СУЩЕСТВУЕТ ПРИБОРОВ, способных фиксировать запахи и измерять их интенсивность**. Это может сделать **ТОЛЬКО ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ НОС!** Поэтому для работы с запахами привлекают людей – либо профессиональных парфюмеров («носов»), либо группы добровольцев, которые отнюхивают образцы и сообщают о своих ощущениях.

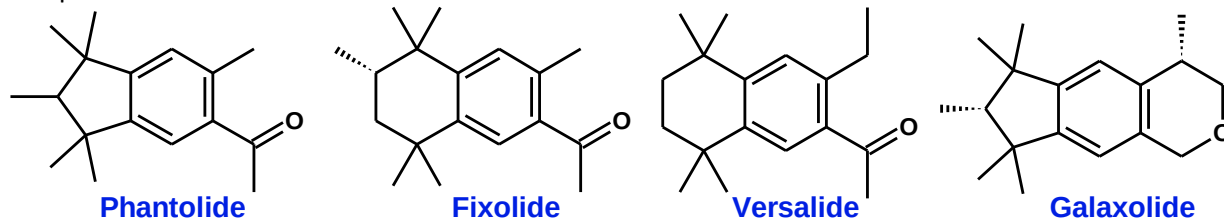
В химии душистых веществ и пищевых ароматизаторов крутятся огромные деньги. Для оптимизации поиска новых душистых веществ требуется **теория, которая соотносила бы строение веществ с их запахом** и помогала бы химикам получать новые вещества с заданными (ну или просто выдающимися) ольфакторными свойствами. И вот здесь всех ждет засада. Есть множество веществ, молекулы которых по своему строению на первый (а также 2-ой, 10-ый, 25-й...) взгляд не имеют между собой ничего общего, но при этом данные вещества обладают схожим запахом. Пример, от которого просто сносит крышу – это, конечно же, МУСКУСЫ.

Для представления о масштабах проблемы приведем несколько примеров веществ, относящихся к разным химическим классам соединений, но обладающих похожим «мускусным» запахом, хоть и с вариациями. Знакомьтесь. Бывают мускусы натуральные (природные) и синтетические. Сначала об искусственных (неприродных) мускусах.

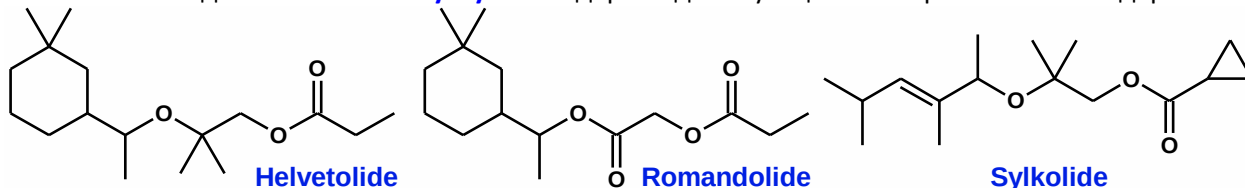
Нитромускусы – ароматические производные бензола с нитрогруппами в кольце:



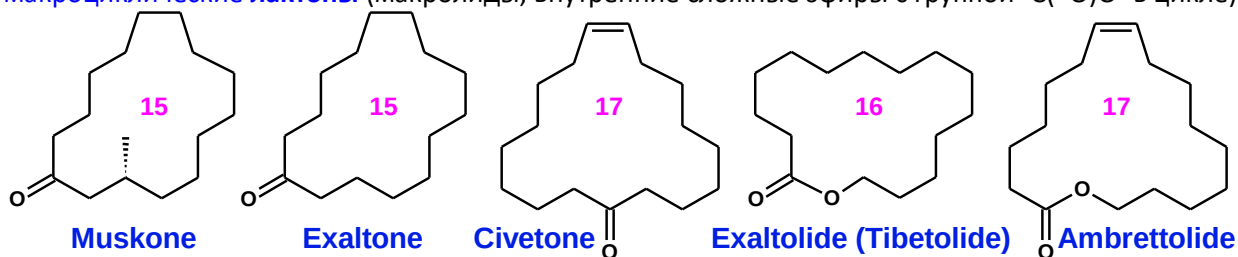
Полициклические мускусы (ПЦМ) – содержат несколько циклов, как ароматических, так и алифатических:



Новомодные **линейные мускусы** – содержат длинную цепь без ароматических ядер:



Ну и теперь «вишенка» на мускусном торте – натуральные (природные) **МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ мускусы** и подобные им синтетические структуры. Все они содержат алифатический цикл гигантских размеров (макроцикл). Мускусы животного происхождения – это **макроциклические кетоны** (с группой C=O в цикле), мускусы растительного происхождения – **макроциклические лактоны** (макролиды, внутренние сложные эфиры с группой -C(=O)O- в цикле):



Возникает вопрос – что, ну вот ЧТО?! общего у этих соединений, что они вызывают у человека ощущение схожего запаха?

Стереохимическая теория обоняния Джона Эймюра (Shape theory of olfaction)

Устройство обонятельного анализатора будет рассмотрено ниже. Из него следуют выводы, что пахучее вещество (**одорант**) должно обладать рядом свойств:

1. Одорант должен быть **летучим**. Свеженарезанный лук, например, обладает сильным запахом, потому что непрерывно выделяет летучие молекулы. И наоборот, золото при обычных температурах ничем не пахнет, потому что с его поверхности не происходит испарения молекул. **Летучими являются вещества молекулярного строения с небольшой молекулярной массой**.
2. Одорант должен быть липофильным (гидрофобным), т.е. **растворимым в жирах (липидах)**, что позволяет ему проникать в нервные окончания через липидный слой, образующий часть наружной мембраны клеток.
3. Одорант должен хотя бы минимально **растворяться в воде**. Полностью гидрофобное вещество не достигнет нервных окончаний, поверхность которых покрыта водной пленкой.

В остальном поражает отсутствие каких-либо закономерностей между химическим составом и пространственной структурой молекул пахучих веществ и присущим им запахом.

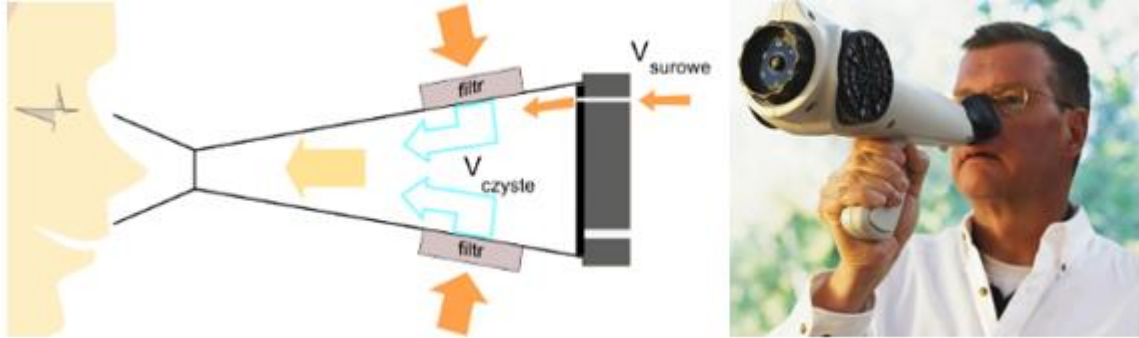
Как ни парадоксально, само отсутствие закономерности стало своего рода закономерностью. Например, два энантиомера (зеркальных антипода) могут пахнуть по-разному. С другой стороны, в замещенных бензолах изменение положения заместителей в кольце может резко изменить запах соединения, а вот алифатические макроциклы из 14–19 атомов существенно перегруппировываются без заметного изменения их запаха. Эти факты привели химиков к мысли о том, что **основной фактор, определяющий запах вещества – это ОБЩАЯ ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ФОРМА МОЛЕКУЛЫ**, а не особенности его состава или структуры.

Одну из первых классификаций запахов предложил в 18 веке шведский ботаник Карл Линней. В своей работе «*Odores medicamentorum*», созданной в дополнение к любимой им систематике растений, ученый выделил семь типов запахов: пряные, благовонные, амброво-мускусные, луковые (или чесночные), козлиные, отталкивающие и тошнотворные.

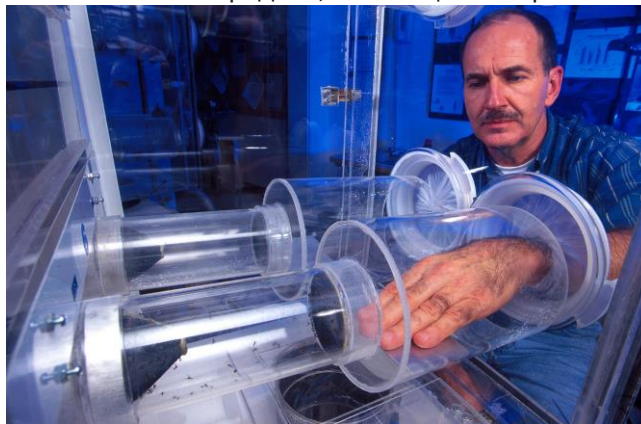
В 1895 году голландский физиолог Гендрик Цваардемакер в монографии «*Физиология запахов*» переработал систему Линнея, добавив к ней еще два типа запахов (эфирные и горелые) и выделив в каждом типе более мелкие категории. Цваардемакер также изобрел **ольфактометр** – герметичный сосуд с отходящей от него трубкой, который до сих пор используют для измерения остроты обоняния. Он также показал, что некоторые запахи перестают восприниматься, если смешать их с определенными эфирными маслами. Такие комбинации веществ получили название

«пар Цваардемакера», или Z-пар. Например, выяснилось, что запах аммиака заглушается розовым маслом, а запах табака – маслом горького миндаля.

Ольфактометры используются для измерения порога обнаружения запаха веществ. В некоторых штатах США разрешено выращивание марихуаны, но с разрешения властей. Для контроля за незаконными плантациями конопли используется прибор «Nasal Ranger», который позволяет моментально анализировать дозированные порции воздуха. Прибор оснащен мощными фильтрами для очистки воздуха от примесей. Через дозатор в аппарат поступает воздух извне; он разбавляется чистым воздухом в определенной пропорции. Как только человек чувствует явный сторонний запах, прибор определяет координаты замера и концентрацию вещества. По результатам замеров строят «карту ароматов» района:



Часто «ольфактометром» называют прибор, используемый для изучения поведения насекомых в присутствии обонятельного стимула. Он состоит из трубки с раздвоением (в форме буквы "Т" или "Y"), по которой ходит насекомое и выбирает между двумя вариантами – чистым воздухом и одорантом (поэтому прибор называют также ольфактометром с двойным выбором, dual choice olfactometer). На снимке энтомолог демонстрирует привлекательность своей руки для самок комаров, зараженных желтой лихорадкой, с помощью ольфактометра:



В 1949 году Роберт Монкрифф предположил, что:

- 1) обонятельная система человека построена из рецепторных клеток нескольких (от 4 до 12) отличных друг от друга типов, каждый из которых регистрирует отдельный «первичный» запах;
- 2) пахучие молекулы оказывают свое действие путем **точного совпадения формы молекулы одоранта с формой рецепторных участков** в этих клетках.

Гипотеза Монкриффа являлась аналогией концепции «ключа и замка», предложенной для объяснения взаимодействия ферментов с их субстратами, антител с антигенами, молекул ДНК с молекулами РНК.



Джон Эймур (1930-1998)

В 1952 году британский биохимик Джон Эймур (John Ernest Amoore, 1930-1998) развил теорию Монкриффа, пытаясь найти ответы на два вопроса:

- 1) какие запахи являются «**первичными**», а какие «**смешанными**» (то есть составленными из двух или большего числа первичных);
- 2) какова форма рецепторного участка для каждого из «первичных» запахов.

Чтобы определить «первичные» запахи, Эймур объединил 600 органических соединений (взятых из книги Монкриффа и Справочника Бельштейна) в группы на основе сходности запаха. Если гипотеза рецепторных участков была правильной, то распознавание «первичных» запахов должно происходить значительно чаще, чем «смешанных». Действительно, как оказалось, некоторые запахи встречаются чаще остальных. Так, из 600 соединений более 100 имели запах камфоры, и только 6 – кедрового дерева; следовательно, запах камфоры относится к первичным. В итоге удалось выделить **7 запахов**, которые предположительно являются **первичными**.

Классы запахов

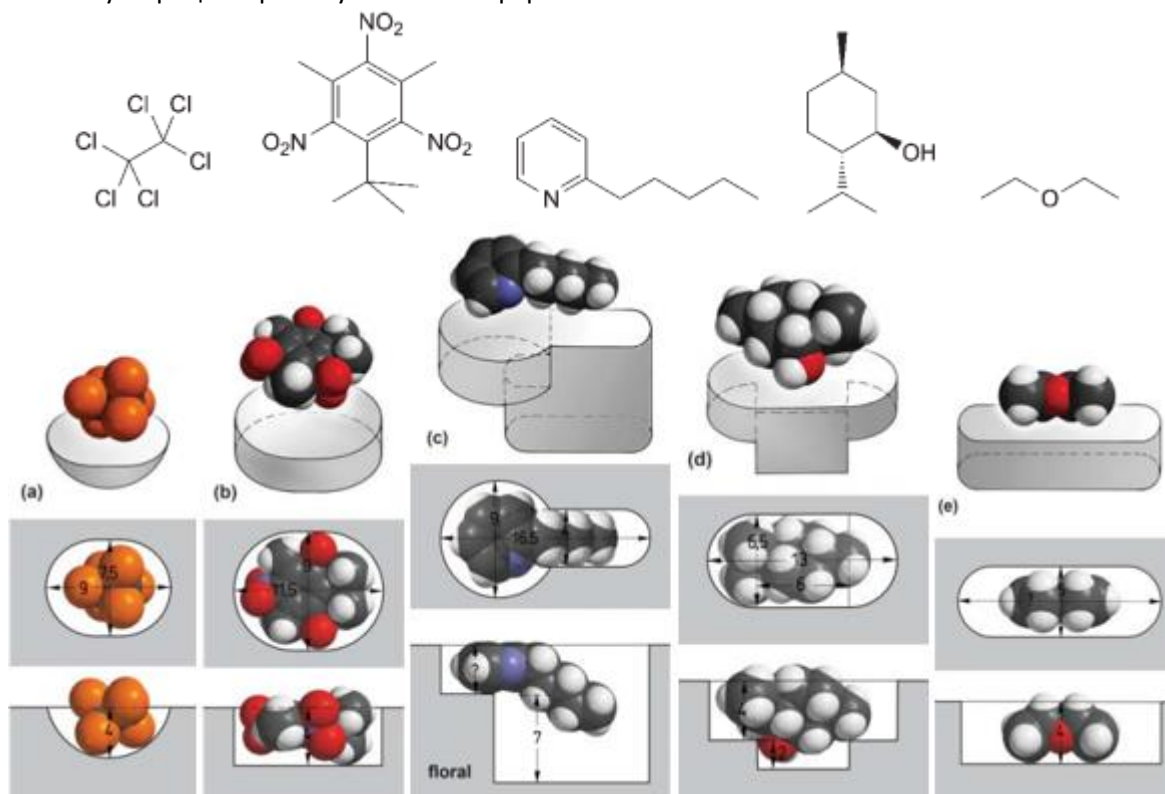
№	класс запахов	кол-во веществ (из 600), обладающих запахом	примеры из жизни
1	камфорный	106	атимоль, камфора
2	едкий	95	уксус
3	эфирный	53	эфир, жидкость для «сухой чистки»
4	цветочный	71	роза, жасмин, ландыш
5	мятный	77	ментол, мятные конфеты
6	мускусный	69	мускус
7	гнилостный	49	тухлые яйца

Из 7-ми первичных запахов может быть произведен любой известный запах при смешивании их в определенных пропорциях. Например, сложный фруктовый запах – это смесь трех «первичных» запахов (цветочный + мятный + эфирный). В этом отношении первичные запахи подобны 3-м первичным цветам (красному, зеленому и синему) и 4-м первичным вкусовым ощущениям (сладкому, соленому, кислому и горькому).

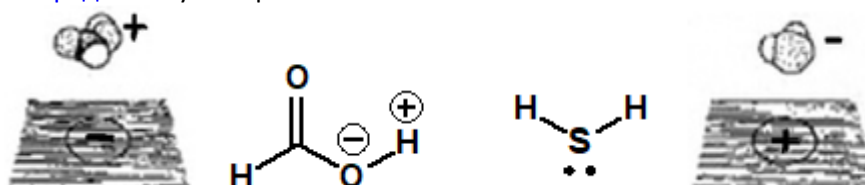
Согласно теории Эймура, для восприятия 7-ми первичных запахов **в носу человека должно быть 7 различных типов обонятельных рецепторов**. Эймур представлял рецепторные участки в виде крошечных впадин в мембране нервного волокна, каждая из которых имела своеобразную форму и величину. Предполагалось, что молекулы определенной формы «вписываются» в каждый из этих участков подобно тому, как штекер входит в гнездо (или ключ в замок). Согласно теории запаха Эймура, запах возникает, если раздражитель может занимать комплементарный рецепторный участок для соответствующих первичных запахов.

Восприятие 5-ти (из 7-ми) запахов основано на концепции «ключа и замка». На рисунке показано, как молекулы веществ с **камфорным** (**гексахлорэтан**), **мускусным** (**Musk xylene**),

цветочным (2-амилпиридин), мятным ((-)-ментол) и эфирным (диэтиловый эфир) запахами соответствуют рецепторным участкам по форме:



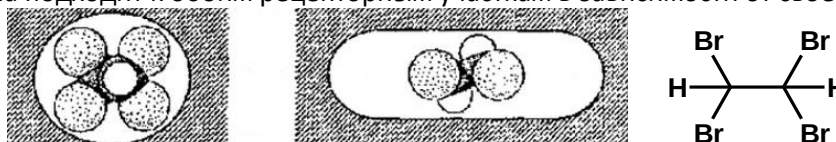
А вот распознавание оставшихся 2-х запахов устроено иначе. Молекулы веществ с едким (муравьиная кислота) и гнилостным (сероводород) запахами соответствуют рецепторным участкам по зарядам, а не по форме. Их запах зависит не от размера и формы молекул, а от их электронного строения. Едкие запахи свойственны соединениям, которые имеют положительный заряд и являются электрофилами. Напротив, гнилостные запахи свойственны молекулам с отрицательным зарядом – нуклеофилам:



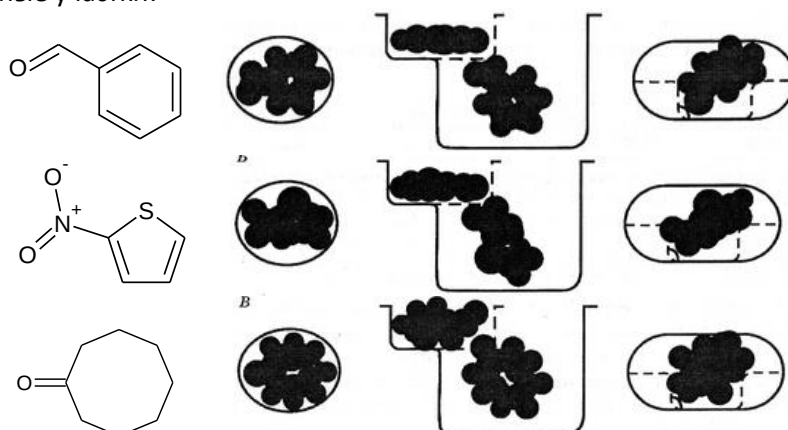
Согласно теории Эймура, молекулы с первичным запахом могут совпадать только с одним видом рецепторов. Молекулы со сложным («смешанным») запахом обладают несколькими первичными запахами, так как могут подходить к нескольким различным рецепторным участкам:



Так, ацетилентетрабромид (тетрабромэтан) обладает и камфорным, и эфирным запахами, т.к. его молекула подходит к обоим рецепторным участкам в зависимости от своего положения:



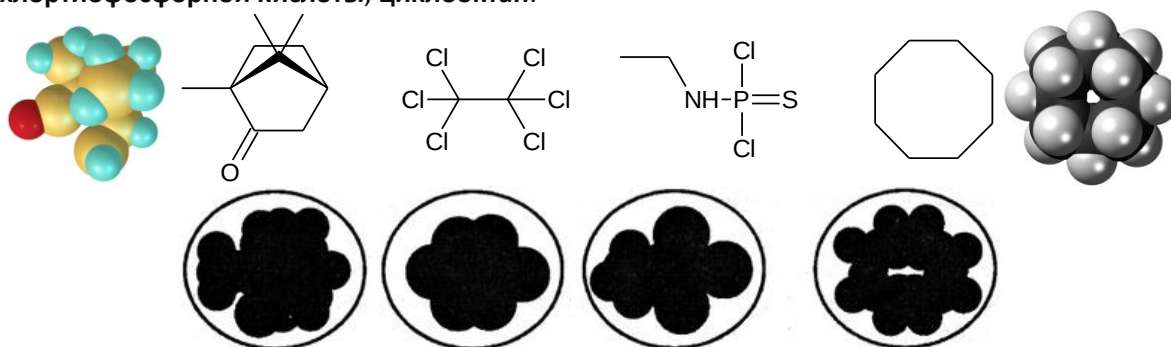
В качестве другого примера рассмотрим молекулы веществ с запахом *миндаля* (запах миндаля = камфорный + цветочный + мятный): **бензальдегид**, **α -нитротиофен** и **циклооктанон**. Каждая из молекул укладывается (слева направо) в **камфорный**, **цветочный** (двумя молекулами) и **мятный** рецепторные участки:



Позднее с развитием рентгеноструктурного анализа (РСА), ИК спектроскопии и электронно-зондового анализа были построены 3D модели молекул. Когда сравнили модели молекул, обладающих **камфорным** запахом, то оказалось, что все они могут принимать форму маленьких шариков – то есть **округлую форму и диаметр ~ 7 Å**. Рецепторный участок для камфорных соединений должен быть чашеобразной полостью длиной 9 Å, шириной 7,5 Å и глубиной 4 Å.

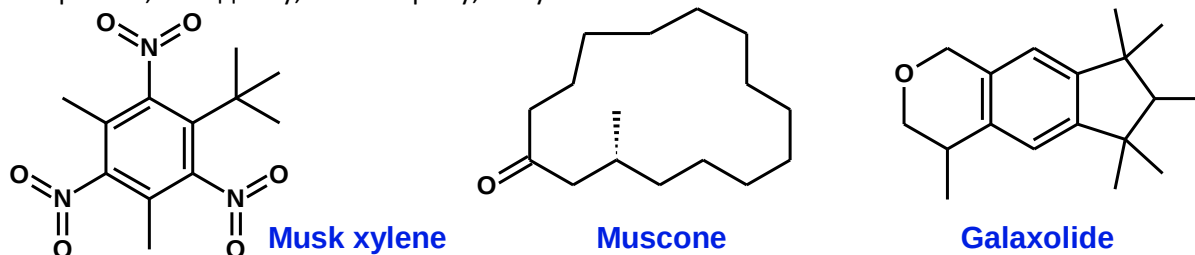
Одни молекулы камфорных соединений представляют собой маленькие жесткие шарики, которые изначально подходят этим чашам (камфора), другие же молекулы не столь жестки и могут легко принимать форму чаши (циклооктан). Для стимуляции камфорного рецептора достаточно высокой степени симметрии, а наличие полярной функциональной группы (типа C=O в камфоре) не обязательно для появления камфорного запаха.

Вот 4 соединения с камфороподобным запахом, которые не похожи по химическому составу и структуре, но сходны по величине и форме молекул (все они укладываются в чашеобразную форму рецепторного участка): **D-камфора**, **гексахлорэтан**, **N-этиламид дихлортиофосфорной кислоты**, **циклооктан**:



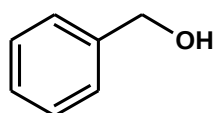
Соединений с камфорным запахом очень много (106 из 600 в работе Эймура). Это значит, что у многих молекул есть фрагмент, который может связываться с камфорным рецептором.

Мускусный запах характерен для молекул **дискообразной формы** с максимальным размером 11,5 Å в длину, 9 Å в ширину, и глубиной 4 Å:

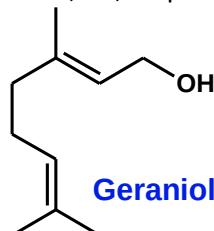




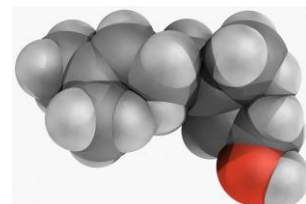
Цветочный запах характерен для молекул **дискообразной формы** диаметром 9 Å с **гибким хвостом** как у воздушного змея максимальной длины 7,5 Å, ширины 4 Å и глубины 7 Å:



benzyl alcohol



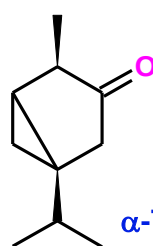
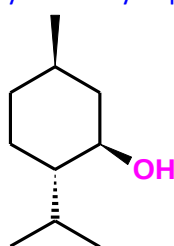
Geraniol



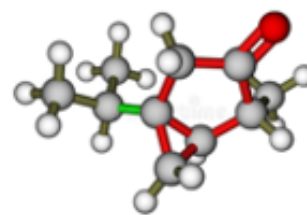
Прохладный **мятный** запах вызывается молекулами **клиновидной формы**, которые вписываются в эллипсоидальный цилиндр длиной 13 Å, шириной 6,5 Å и глубиной 4 Å, с дополнительными выемками глубиной 2 Å и шириной 6 Å с **поляризованной группой атомов**, способных образовать водородную связь у вершины клина:



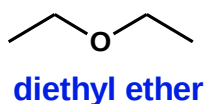
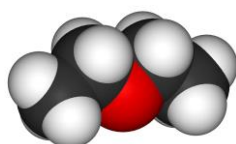
Menthol



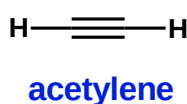
α-Thujone



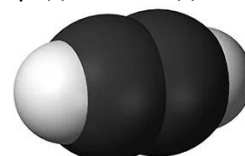
Эфирный запах вызывается **палочковидными** или другими **тонкими молекулами**, которые могут заполнять трубчатую полость шириной 5 Å, глубиной 4 Å и неопределенной длины:



diethyl ether



acetylene

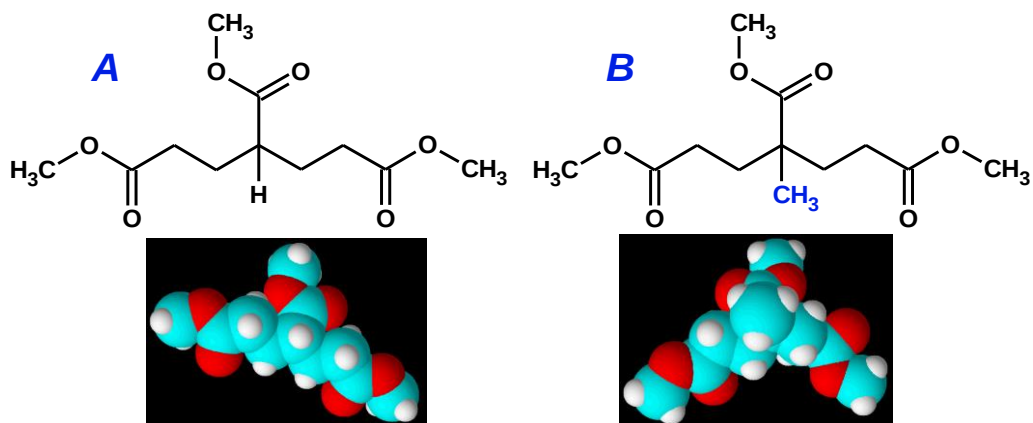


В каждом из этих случаев рецепторный участок на нервном окончании имеет форму и величину, соответствующую форме и величине молекул.

Едкий и **гнилостный** запахи являются исключениями из этого принципа соответствия форм. Молекулы, обладающие этими запахами, имеют неопределенную форму и размеры, а особое значение приобретает **электрический заряд** молекул. **Едкие** запахи свойственны соединениям, имеющим **положительный заряд** и являющимся электрофилами. Напротив, **гнилостные** запахи свойственны молекулам с **отрицательным зарядом** – нуклеофилам.

До катастрофы, устроенной Линдой Бак и ее гоп-компанией, **стереохимическая теория обоняния Монкрифа-Эймюра** являлась **общепризнанной**. Теория прошла целый ряд экспериментальных проверок, доказавших правильность ее основных положений.

Например, по форме молекулы мы должны уметь предсказать ее запах. Рассмотрим молекулу **A**, содержащую у одного атома углерода три заместителя и один атом водорода:



Молекула **A** может подойти к рецепторным участкам, имеющим форму:

- 1) воздушного змея – что будет давать **цветочный** запах,
- 2) клиновидную форму – **мятный** запах и
- 3) форму палочки (благодаря одному из радикалов) – **эфирный** запах.

Согласно теории Эймура, такое вещество должно иметь **фруктовый** запах (**цветочный** + **мятный** + **эфирный** = **фруктовый**).

Теперь заменим в молекуле **A** атом H на более громоздкую CH_3 группу. Наличие четвертого радикала не даст возможности молекуле **B** легко подойти к рецепторным участкам с формами воздушного змея или клина, но один из радикалов все-таки сможет занять палочковидный участок. В результате, согласно теории, должен преобладать **эфирный** запах.

Вещества **A** и **B** были синтезированы. Эксперты-нюхачи подтвердили, что соединение **A** имело фруктовый (виноградный) запах, а соединение **B** имело выраженную примесь эфирного запаха. Этот эксперимент объясняет факт резкого изменения запаха замещенных бензолов при перемещении заместителя – изменение запаха связано с изменением общей формы молекулы.

Еще одним доказательством стало **воспроизведение сложных природных запахов с помощью комбинации нескольких первичных запахов**. Так, Эймур пришел к выводу, что вещества с **запахом кедрового масла** имеют формы молекул, подходящие к рецепторным участкам для **камфорного, мускусного, цветочного и мятного** запахов. А Джонстон действительно воспроизвел из различных комбинаций этих 4-х первичных запахов аромат кедрового масла; он также смог создать запах сандалового дерева.

Однако не все первичные запахи Эймура подтвердились дальнейшими экспериментами. Французы Гилло и Ле Магнен (M.Guillot, J.Le Magnen) провели эксперименты на добровольцах с частичной аносмией (неспособностью воспринимать запахи). Они установили, что некоторые люди не различают запаха **стеарина**, принадлежащего к группе **мускусных**, но при этом хорошо чувствуют запахи **других мускусов**. Это значит, что мускусный запах не является первичным (в том смысле, который вкладывал в него Эймур). В итоге Гилло предположил, что существуют несколько видов рецепторов к мускусному запаху, причем у некоторых людей какой-то тип может отсутствовать.

Теория Эймура получила широкое признание, и парфюмерные химики стали пользоваться ею для предсказания структуры новых одорантов. Да, теория Эймура работала через 9 раз на 10-й (из 10-ти предсказанных структур нужным запахом обладала хорошо если одна), но она хоть как-то работала! **A потом случилась катастрофа.**

Линда Бак, Ричард Аксель и опровержение теории Эймура



Линда Бак и Ричард Аксель

В 1991 году Линдой Бак и Ричардом Акселем с соавторами (Нобелевская премия по медицине за 2004 год) было совершено открытие: они нашли большое мультигенное семейство, которое экспрессировалось в нейронах обонятельных рецепторов крыс. Дальше – больше. Выяснилось, что из 30.000 генов, которые составляют геном человека, на обоняние отведена целая тысяча генов(!). А **различных типов обонятельных рецепторов** в человеческом носу оказалось не 7 (как у наивного Эймуре), а **больше 400** (ЧЕТЫРЕХСОТ, Карл!!!). И принцип их работы – **комбинаторный** (КОМБИНАТОРНЫЙ, Карл!!!). Если у Эймуре рецепторы и одоранты высокоизбирательны (моногамны), то у Линды Бак энд К° – все связываются со всеми, то есть наблюдается полная вакханалия (или, извините, промискуитет).

Ну и теперь самое время перейти к рассмотрению устройства обонятельного анализатора.

Анатомия обонятельного анализатора

Новая эра в понимании обоняния началась в 1991 году с открытием Линдой Бак с соавторами большого мультигенного семейства, которое экспрессировалось в нейронах обонятельных рецепторов крыс. Гены этого семейства кодируют **рецепторы, связанные с G-белком** – это подтвердило гипотезу, что обонятельные рецепторы относятся именно к данному классу. У крыс это семейство состоит из ~1400 генов – это самое большое семейство генов, которое подчеркивает важность запахов для выживания вида.

Семейство обонятельных рецепторов человека (**human olfactory receptors, hOR**) включает **851 ген** (из которых более 50% являются псевдогенами, инактивированными мутациями). Эти гены расположены на всех хромосомах, кроме хромосомы 20 и определяющей пол Y-хромосомы. Таким образом, самцы и самки не различаются по своему набору обонятельных рецепторов.

В геноме человека имеется **418** неповрежденных и потенциально функциональных **генов** обонятельных рецепторов, которые, помимо своей роли в обонянии, также активно участвуют в других клеточных процессах (межклеточная коммуникация, восстановление тканей, хемотаксис, чувствительность к питательным веществам, регуляция артериального давления).

Обонятельной функцией у человека обладает только участок слизистой оболочки в области верхних носовых ходов площадью ~5,0 см² (по 2,5 см² в каждом носовом ходе) – **обонятельный эпителий**. В этой ткани проходит два типа нервных волокон, окончания которых воспринимают пахучие молекулы. Основной тип представлен **волокнами обонятельного нерва**; на конце каждого из таких волокон находится обонятельная клетка (**обонятельный нейрон**) с пучком волосоподобных нитей, выполняющих роль рецепторов. Другой тип волокон представляет собой длинные тонкие окончания **тройничного нерва**, которые чувствительны к некоторым видам молекул (например, ментолу, вызывающему ощущение «холода»).

Попав через нос на обонятельный эпителий (или сначала через рот, потом нос), пахучие вещества возбуждают рецепторы, расположенные на окончаниях обонятельных нейронов.

На фото справа – **обонятельный эпителий**. Реснички обонятельных нейронов (зеленые) на фоне микроворсинок опорных и микроворсинчатых клеток (коричневые):

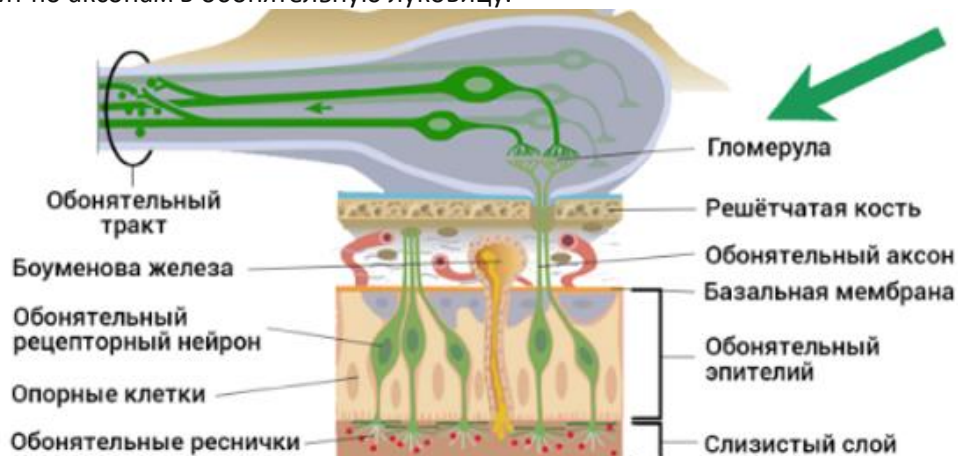


Обонятельный эпителий содержит три группы клеток – собственно **обонятельные нейроны**, окружающие их **опорные клетки** и **базальные стволовые клетки** (и в дополнение – **железы Боумана**). **Опорные клетки** механически поддерживают и разделяют нейроны, а также производят компоненты мукуса, окисляющие ксенобиотики. **Базальные клетки** непрерывно производят новые обонятельные нейроны (которые обновляются каждые 30–40 дней). На 2,5 см² обонятельного эпителия приходится с десяток миллионов нейронов.

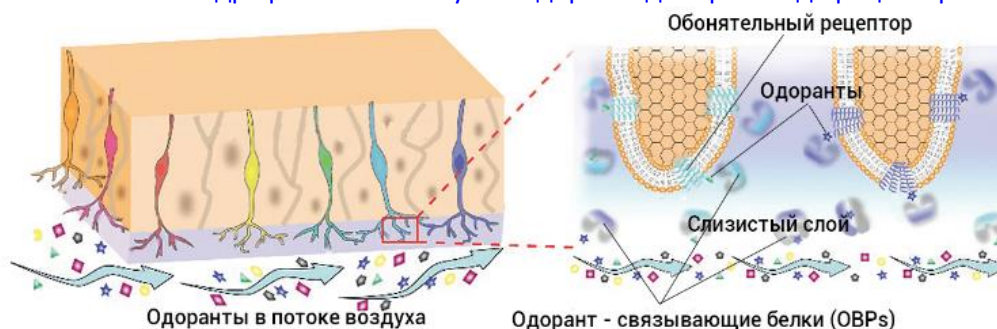
Обонятельные нейроны имеют форму веретена (или бокала) с двумя отростками – периферическим и центральным. *Периферический отросток (дендрит)* доходит до поверхности слизистой оболочки и заканчивается утолщением (**булавой**), из которой пробиваются реснички (**цилии**). На ресничках расположены комплексы обонятельных рецепторов. Каждый нейрон обслуживает 15–30 ресничек. Благодаря этим ресничкам нейроны, спрятанные в эпителии, увеличивают площадь контакта с внешней средой, не подвергая себя лишнему воздействию.

Обонятельный эпителий покрыт тончайшей пленкой – **ольфактивной** (обонятельной) **мембраной**. Обонятельные булавки (благодаря подвижности шеек, на которых они сидят) способны выходить на поверхность ольфактивной мембраны и вступать в контакт с пахучим веществом или же, погружаясь вглубь эпителия, от этого контакта освобождаться.

Центральные отростки (аксоны) обонятельных нейронов образуют тонкие нити, которые, проникая через «ситовидную» крышу полости носа (решетчатую кость), вступают в полость черепа. Эти волокна, в отличие от прочих нервов, не образуют единого ствола, а проходят в виде нескольких (до 20) тонких нитей через отверстия кости. На нижней поверхности лобной доли головного мозга они сходятся, образуя утолщения – **обонятельные луковицы**, которые переходят сзади в обонятельный нерв, волокна которого вступают в вещество мозга. Обонятельные нейроны улавливают молекулы одорантов и отвечают на них сигналом – потенциалом действия; эти сигналы затем уходят по аксонам в обонятельную луковицу.



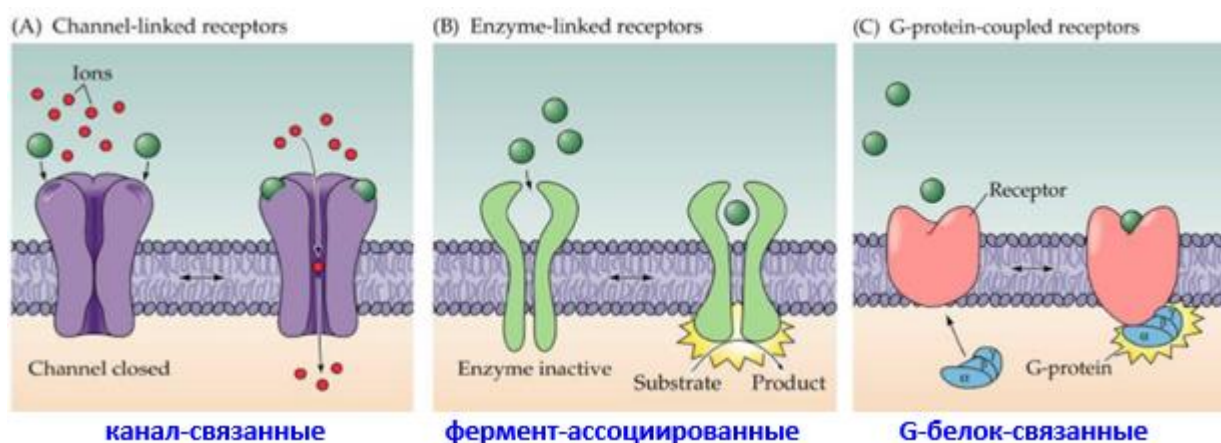
Обонятельный эпителий покрывает слой назального **мукуса** (слизистый слой). В мукусе находятся **одорант-связывающие белки** (OBPs, *odorant binding proteins*), которые захватывают молекулы одоранта и транспортируют их к рецепторам на ресничках обонятельных нейронов, таким образом **помогая гидрофобным молекулам одоранта добираться до рецепторов**.



На мембранах ресничек находятся не только рецепторы, но и все детали **классического сигнального каскада**. Когда молекула одоранта преодолевает слой мукуса и приближается к ресничкам, происходит ведущее событие трансдукции (*трансдукция* – преобразование внешнего воздействия в код нервных сигналов) – молекула одоранта связывается с рецептором и запускается сигнальный каскад.

Мембранные клеточные рецепторы делятся на:

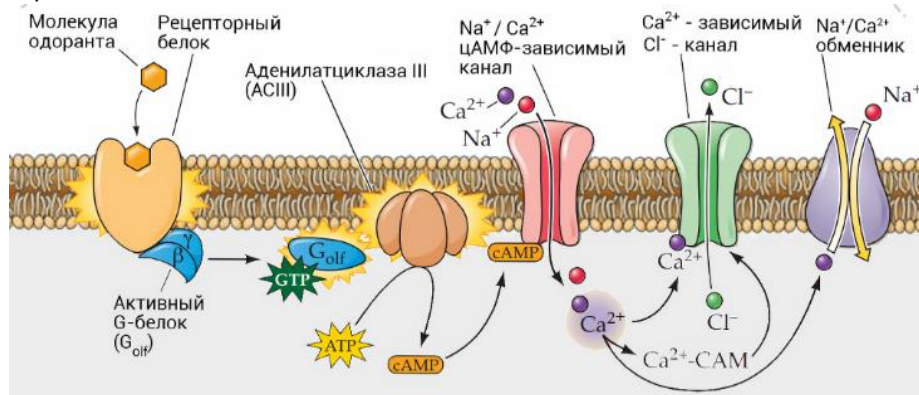
- A. Каналобразующие рецепторы** (канал-связанные) – присоединение лиганда к рецептору открывает ионный канал на мембране.
- B. Рецепторы с ферментативной активностью** (фермент-ассоциированные) – взаимодействие лиганда с рецептором снаружи клетки активирует внутриклеточную часть (домен) рецептора.
- C. Рецепторы, связанные с G-белками** (GPCR, G-protein-coupled receptor, G-белок-опосредованные рецепторы) – передача сигнала происходит при посредничестве G-белка. Лиганд связывается с рецептором. Рецептор активирует G-белок. G-белок влияет на ферменты. Ферменты запускают образование вторичных посредников. Посредники передают сигнал на внутриклеточные белки.



У **насекомых** система работает просто: **их обонятельные рецепторы** – это обычные **ионные каналы** (A), которые при активации сигнальной молекулой «открываются», запуская в клетку поток ионов. У **млекопитающих** обонятельные рецепторы относятся к группе **рецепторов, связанных с G-белками** (C). Эти рецепторы представляют собой 7 ТМ белки, то есть трансмембранные белки из 7-ми спиральных доменов, образующих туннелеобразную полость для связывания с одорантом. Рецепторы связаны с G-белками, связывающими гуаниновые нуклеотиды; это короткие G-белки, состоящие из трёх субъединиц, называемых α , β и γ (G_α , G_β и G_γ). Субъединицы β и γ диссоциируют совместно, поэтому их еще называют « $\beta\gamma$ -комплекс». G-белки названы так, поскольку в своём

сигнальном механизме они используют замену GDP на GTP как молекулярный «выключатель» для регулировки клеточных процессов.

Участие G-белка в передаче сигнала усиливает действие даже слабых запахов. Связывание молекулы одоранта с рецептором (активация рецептора) запускает **схему усиления сигнала** – классический сигнальный каскад циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), который выглядит следующим образом:

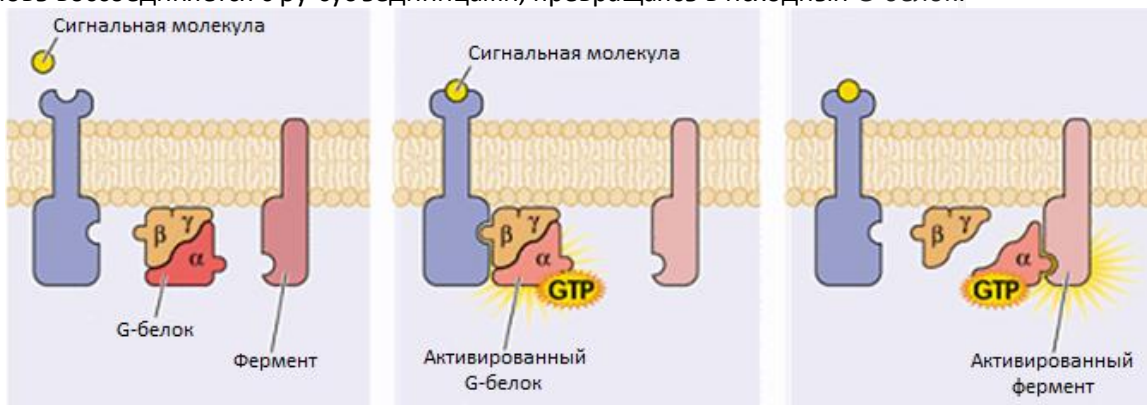


Рассмотрим более подробно трансформацию рецептора и связанного с ним G-белка.

I) **Белок-рецептор** в результате присоединения молекулы лиганда меняет свою конформацию (четвертичную структуру) и «пинает» (активирует) связанный с ним G-белок.

II) **Активированный G-белок** начинает сложную возню: его α -субъединица, связанная с ГДФ (G_{α} -ГДФ) отдает ГДФ (гуанозин-5'-дифосфат) и присоединяет ГТФ (гуанозин-5'-трифосфат), превращаясь в G_{α} -ГТФ (**первый мессенджер**) отделяется от $\beta\gamma$ -субъединиц, добирается до белка-фермента и «пинает» (активирует) его.

После передачи сигнала G_{α} -ГТФ гидролизует связанный ГТФ (трифосфат) до ГДФ (дифосфата), снова превращаясь в G_{α} -ГДФ. G_{α} -ГДФ не может связываться с ферментными белками и вновь воссоединяется с $\beta\gamma$ -субъединицами, превращаясь в исходный G-белок:



III) **Активированный фермент аденилатциклаза III (АЦ, АС)** катализирует образование цАМФ (циклического аденозин-3',5'-монофосфата, cAMP) – **вторичного мессенджера**, который открывает цАМФ-зависимые ионные каналы.

IV) Через **открытые ионные каналы** в клетку поступают катионы Ca^{2+} и Na^{+} . Катион Ca^{2+} связывается с хлорным каналом, через который анион Cl^{-} выходит из клетки. Потенциал на мембране меняется, и по аксону в обонятельную луковицу уходит потенциал действия.

В родственном механизме зрения было показано, что один активированный рецепторный белок может вызывать образование до 10^5 молекул вторичных мессенджеров. Электрический потенциал внутри неактивированной клетки составляет от -65 до -70 mV. Приток катионов понижает потенциал и при -40 mV генерирует потенциал действия, который распространяется по аксону.

Дополнительное усиление сигнала может вызываться активируемыми ионами кальция хлорными каналами, обеспечивающими отток анионов хлора.

Одорант обычно реагирует со всем набором обонятельных рецепторов, но с разным сродством. Аксоны нейронов с одинаковыми рецепторами встречаются в одном обонятельном клубочке, или гломеруле (составной части обонятельной луковицы). Результирующая активация гломерул кодирует свойства одоранта. В геноме человека имеется 418 неповрежденных и потенциально функциональных генов обонятельных рецепторов. Принимая во внимание только их, это уже дает $2^{418} = 6,77 \times 10^{125}$ комбинаций, и поэтому в принципе никакие два одоранта не пахнут абсолютно одинаково.

Сигналы из гломерул передаются через обонятельный тракт в центры более высокого уровня центральной нервной системы (ЦНС), и там расшифровываются. Обонятельное впечатление является результатом анализа мозгом сигналов от гломерул и сравнения их с известными паттернами активности гломерул, представляющими определенные запахи.

На смесь запахов (которые мы называем одним словом: например, запах «кофе» или запах «цветов») реагируют определённые комбинации гломерул. Такие перекрывающиеся схемы активации называют «картами запахов» («odor maps»), или «отпечатками запаха» («odor images»). Смесь одорантов может создать обонятельное впечатление, совершенно отличное от ее отдельных компонентов, и это фактически основа парфюмерии.

Еще раз. Отдельные нейроны получают сигналы от нескольких обонятельных рецепторов. Кортиковые нейроны могут интегрировать сигналы от разных обонятельных рецепторов, взаимодействующих с одним и тем же одорантом с разной степенью сродства, и, таким образом, построить нейронный образ запаха из картины активации различных рецепторов. В итоге в мозге формируется сигнальная карта, которая отличается от таковой в обонятельной луковице. Тройничный нерв также играет важную роль в восприятии запахов. Он отвечает за ощущения тепла, холода и покалывания. Тройничный нерв располагается на слизистой оболочке носа и языка, и его импульсы не передаются в обонятельную луковицу, а обрабатываются независимо.

Принцип работы рецепторов называется комбинаторным. Согласно комбинаторному принципу, молекула одоранта активирует несколько рецепторов, а большинство рецепторов реагируют на обширный репертуар одорантов («рецепторы широкого профиля»). Еще в 1972 году Эрнест Полак постулировал, что механизм восприятия запахов носит комбинаторный характер, но только в 1999 году Линда Бак с соавторами продемонстрировали, что каждый обонятельный рецептор реагирует на целый ряд запахов. Позднее группа Линды Бак даже показала, что определенные бинарные смеси активируют нейроны обонятельной коры, которые не активируются отдельными компонентами смеси. Каждый одорант взаимодействует с разным количеством обонятельных рецепторов и с разной степенью сродства, и каждый рецептор может дополнительно модулировать сигналы других рецепторов, создавая тем самым образ воспринимаемого запаха.

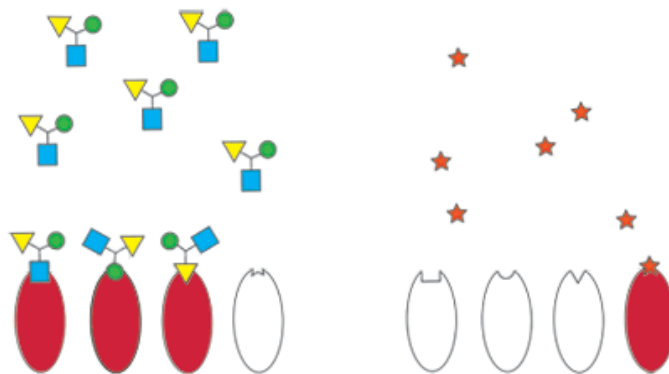
Несмотря на комбинаторное кодирование, могут существовать и первичные одоранты, которые взаимодействуют почти исключительно с одним рецептором, и специфичные к ним рецепторы. Было много попыток найти такие рецепторы, но до сих пор только ~15% всех hOR (human olfactory receptors) были охарактеризованы активирующими их одорантами.

Одоранты могут связываться с двумя типами обонятельных рецепторов: универсальными (*generalists*) и специализированными (*specialists*) рецепторами.

Универсальные рецепторы (на рисунке слева) активируются множеством различных одорантов; благодаря им и работает комбинаторный принцип обоняния.

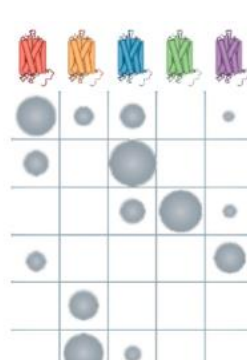
А вот особо важные одоранты (например, сигнальные вещества о приближении хищников или половых партнеров) связываются со специализированными рецепторами (на рисунке справа), предназначенными для информирования мозга о наличии спецсигнала в окружающей среде. Эти специализированные рецепторы позволяют мозгу генерировать

врожденные поведенческие реакции на критические запахи. Так, рецептор AgOr1 у малярийных комаров связывает компонент пота человека (4-метилфенол).



В свою очередь, обычные одоранты активируют множество различных рецепторов. На схеме слева – гипотетические ответы разных рецепторов на предъявляемые одоранты; размер круга отражает силу ответа (рецепторный потенциал).

На схеме справа – разные одоранты обнаруживаются разными комбинациями рецепторов и, следовательно, имеют разные рецепторные коды; эти коды преобразуются мозгом в различные восприятия запаха. Огромное количество потенциальных комбинаций рецепторов лежит в основе нашей способности различать и запоминать более 10.000 различных запахов:



Odorant receptors	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Description
A <chem>CCCC(O)C</chem>					●										rancid, sour, goat-like
B <chem>CCCC(O)C</chem>		●				●									sweet, herbal, woody
C <chem>CCCC(O)C</chem>	●			●	●		●			●	●				rancid, sour, sweaty
D <chem>CCCC(O)C</chem>		●			●	●									violet, sweet, woody
E <chem>CCCC(O)C</chem>	●			●	●		●	●		●	●	●			rancid, sour, repulsive
F <chem>CCCC(O)C</chem>				●	●		●			●					sweet, orange, rose
G <chem>CCCC(O)C</chem>	●			●	●		●	●		●		●		●	waxy, cheese, nut-like
H <chem>CCCC(O)C</chem>				●	●		●			●		●			fresh, rose, oily floral

MODIFIED AFTER LINDA BUCK AND COLLEAGUES IN CELL VOL 96, MARCH 5, 1999

А ТЕПЕРЬ ВНИМАНИЕ – ВОПРОС, ДАЖЕ ДВА.
КАК С ПОМОЩЬЮ ТЕОРИИ ЛИНДЫ БАК ОБЪЯСНИТЬ СХОЖЕСТЬ ЗАПАХОВ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ?
И КАК ВООБЩЕ ЖИТЬ ПАРФЮМЕРНЫМ ХИМИКАМ В МИРЕ ХАОСА, ГДЕ ВСЕ СНЮХИВАЮТСЯ СО ВСЕМИ, ИЗМЕРИТЬ И ПРЕДСКАЗАТЬ НИЧЕГО НЕЛЬЗЯ, А РАБОТАТЬ КАК-ТО НУЖНО?

Ой, да все как обычно. На столе у каждого парфюмерного химика под огромным новомодным, продвинутом и пафосным трактатом Линды Бак прячется тоненькая старенькая книжечка Джона Эймура. По ней и работают. Жить-то как-то надо.

Обонятельный «белый шум»

Сигналы от рецепторов по обонятельному нерву поступают в обонятельную луковицу, расположенную в переднем мозге. Луковица содержит многочисленные клубочки (гломерулы), каждый из которых воспринимает сигналы только от одного типа рецепторов. Различные запахи приводят к возбуждению разного набора клубочков. Именно в них происходит первичная обработка и категоризация обонятельных сигналов: было показано, что постепенные изменения

структуры пахучих веществ приводят к дискретным (скачкообразным) изменениям активности отдельных групп клубочков. Обонятельная луковица, таким образом, разбивает все многообразие поступающих в нее сигналов на более крупные категории, которые затем отправляются в «высшие инстанции» мозга – корковый обонятельный центр.

Вероятно, этими механизмами отчасти объясняется феномен обонятельного «белого шума», открытый в 2012 году израильскими физиологами. Они установили, что **разные достаточно сложные смеси пахучих веществ вызывают у человека одно и то же ощущение обонятельного «белого шума», даже если в составе смесей нет никаких общих компонентов.**

Добровольцам предлагали сложные смеси (содержащие до 43-х пахучих веществ). Выяснилось, что при увеличении числа компонентов смеси ее субъективный запах становится все менее различимым. Более половины смесей, состоящих из 20-ти компонентов и более, имели для участников эксперимента «очень схожий» запах (несмотря на то, что в них не было никаких общих компонентов). А смеси из 30-ти компонентов и более не смог различить почти никто.

Затем добровольцам сначала давали понюхать смесь с названием «Laurax» из 40-ка компонентов, а потом предлагали описать запах нескольких других смесей. Оказалось, что чем больше в смесях было компонентов, тем чаще участники эксперимента были склонны идентифицировать их как «Laurax». Тот же опыт, проведенный 6 месяцев спустя, показал, что добровольцы **помнят запах «Laurax» и продолжают называть так все достаточно сложные смеси.**

Следует отметить, что большинство природных запахов, таких как **аромат розы или кофе**, тоже являются составными, но при этом хорошо различимы человеком. В таких смесях компоненты, во-первых, имеют сходное строение, а во-вторых, очень сильно отличаются концентрацией и интенсивностью запаха. В отличие от природных, использованные в эксперименте искусственные смеси одновременно активируют множество обонятельных рецепторов с одинаковой силой.

Феномен «белого шума», вероятно, связан со спецификой обработки обонятельных сигналов в мозге. Мозг, перегруженный поступающей информацией, упрощает ее, разбивая на категории. Поэтому **нет никакого смысла в составлении сложных духов или специй из сотен компонентов** – мозг все равно не станет утруждать себя их идентификацией.

Такие многокомпонентные смеси могут использоваться для маскировки запахов. Так, искусственная смесь из 40-ка компонентов может маскировать «простой» 4-компонентный запах розы. Этот обонятельный «белый шум» можно использовать, например, для маскировки запаха общественных туалетов (что хорошо) или кокаина и взрывчатых веществ (что плохо).