

ГОЛОВНОЙ МОЗГ ЧЕЛОВЕКА РАБОТАЕТ В СИСТЕМЕ ДВОИЧНОГО КОДА (ГИПОТЕЗА)

УДК 616-001.8:615.355

© А. А. Букинич, П. Д. Шабанов

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Ключевые слова:

мозг; дофамин; димерная структура рецепторов.

Резюме

Как работает головной мозг человека, до настоящего времени остается не совсем ясным. Используя единственный нейрон, применяя фармакологические реагенты, была описана деятельность нейронов в центральной нервной системе позвоночных животных. Основой для изучения деятельности головного мозга явилось изучение димерных (гетеромерных) структур, образованных G-протеинсвязанными рецепторами, на поверхности мембран нейронов, выделенных из своего обычного окружения. Использование физиологических концентраций фармакологических реагентов позволило произвести рекомбинантную рокировку, как если бы данные процессы происходили в сети нейронов нативного головного мозга. Одним словом, были воссозданы идеальные условия для моделирования процессов генерации нервного импульса.

Во все времена лучшие умы человечества (философов, теологов, религиозных деятелей, ученых) занимал вопрос, как работает головной мозг человека. Несмотря на явные успехи в изучении мозговой деятельности человека, ответ на него и поныне остается открытым. Используя единственный нейрон, применяя фармакологические реагенты, была описана деятельность нейронов в центральной нервной системе позвоночных животных.

Основой для изучения деятельности головного мозга явилось изучение димерных (гетеромерных) структур, образованных G-протеинсвязанными рецепторами, на поверхности мембран нейронов, выделенных из своего обычного окружения. Использование физиологических концентраций фармакологических реагентов позволило произвести рекомбинантную рокировку, как если бы данные процессы происходили в сети нейронов нативного головного мозга. Одним словом, были воссозданы идеальные условия для моделирования процессов генерации нервного импульса.

МЕТОДИКА

На изолированных мультиполярных нейронах (мотонейроны и интернейроны) спинного мозга пещерной личинки миноги *Lampetra planeri*, центральная нервная система которых имеет в основных чертах тот же принцип организации, что и у высших

позвоночных животных [2], методом пэтч-кламп в модификации «целая клетка» было исследовано действие антагониста D₂-рецепторов дофамина (-)-сульпирида на эффекты дофамина на пиковую амплитуду потенциалактивируемых Na⁺-токов. Исследование проводили при командном потенциале -50 мВ. В исследованиях была использована левовращающая форма антагониста D₂-рецепторов сульпирида, так как она является высокоселективным антагонистом рецепторов, D-форма (правовращающая) сульпирида представляет собой частичный агонист, может проявлять свойства как агониста, так и антагониста D₂-рецепторов [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Апликация дофамина 1 мМ уменьшала амплитуду Na⁺-тока на 31,2±5,1% на 11 нейронах (p<0,001) и увеличивалась на 38,0±16,1% на 6 нейронах (p<0,008). Восстановление амплитуды Na⁺-тока после отмыва дофамина составило 92,4±5,7% в случае уменьшения амплитуды Na⁺-тока, и 99,6±3,1% — в случае ее увеличения. Совместная апликация (-)-сульпирида 1 мМ и дофамина 1 мМ вызывала уменьшение амплитуды Na⁺-токов на 16,0±5,5% на 8 нейронах (p<0,01) и увеличение — на 12,4±4,9% на 6 нейронах (p<0,01). Восстановление амплитуды Na⁺-тока после отмыва дофамина и (-)-сульпирида составило 96,7±6,7% в случае уменьшения амплитуды Na⁺-тока, и 94,6±4,6% — в случае ее увеличения. Таким образом, эффект дофамина 1 мМ был заблокирован сульпиридом 1 мМ на 49,5±9,3% в случае уменьшения амплитуды Na⁺-токов и на 67,5±0,6% — в случае ее увеличения. Нормированные кривые зависимости доза-эффект дофамина 1, 10, 50 мкМ и 0,1; 1 мМ на амплитуду потенциалактивируемых Na⁺-токов вышли на плато. Дофамин 1 мкМ не оказывал действия на амплитуду потенциалактивируемых Na⁺-токов. Апликация дофамина 10 мкМ уменьшала амплитуду Na⁺-тока на 13,5±2,2% на 24 нейронах (p<0,001) и увеличивала на 8,6±6,1% на 5 нейронах (p<0,05). Восстановление амплитуды Na⁺-тока после отмыва дофамина составило 98±3,5% в случае уменьшения амплитуды Na⁺-тока, и 97,3±4,9% — в случае увеличения. В контрольных тестах, когда вместо дофамина подавали физиологический раствор, подобные эффекты не наблюдали: уменьшение амплитуды Na⁺-тока составило 0,17±0,06% на 9 нейронах (p=0,04), а увеличение — 0,42±0,14%

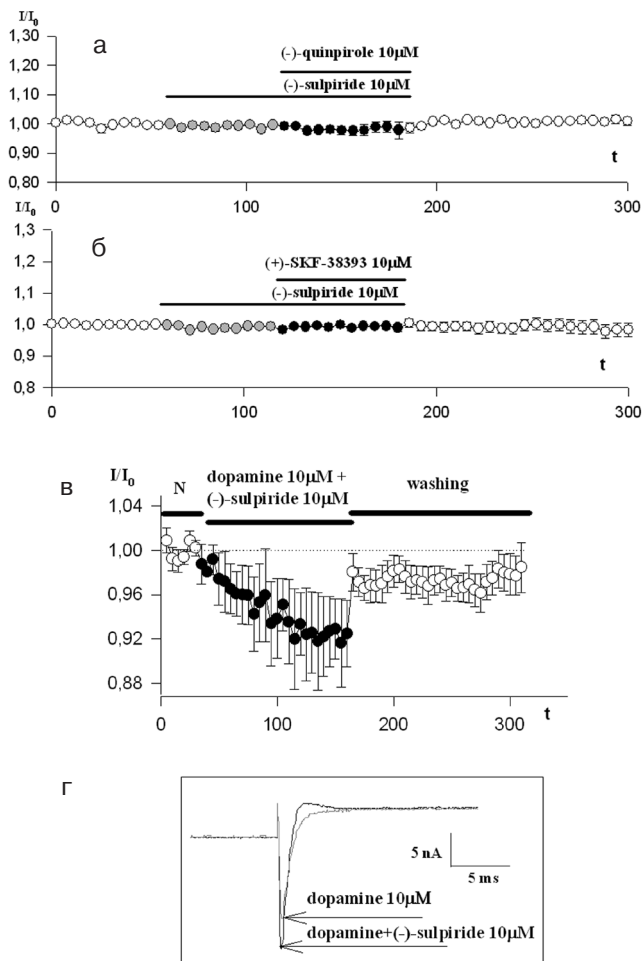


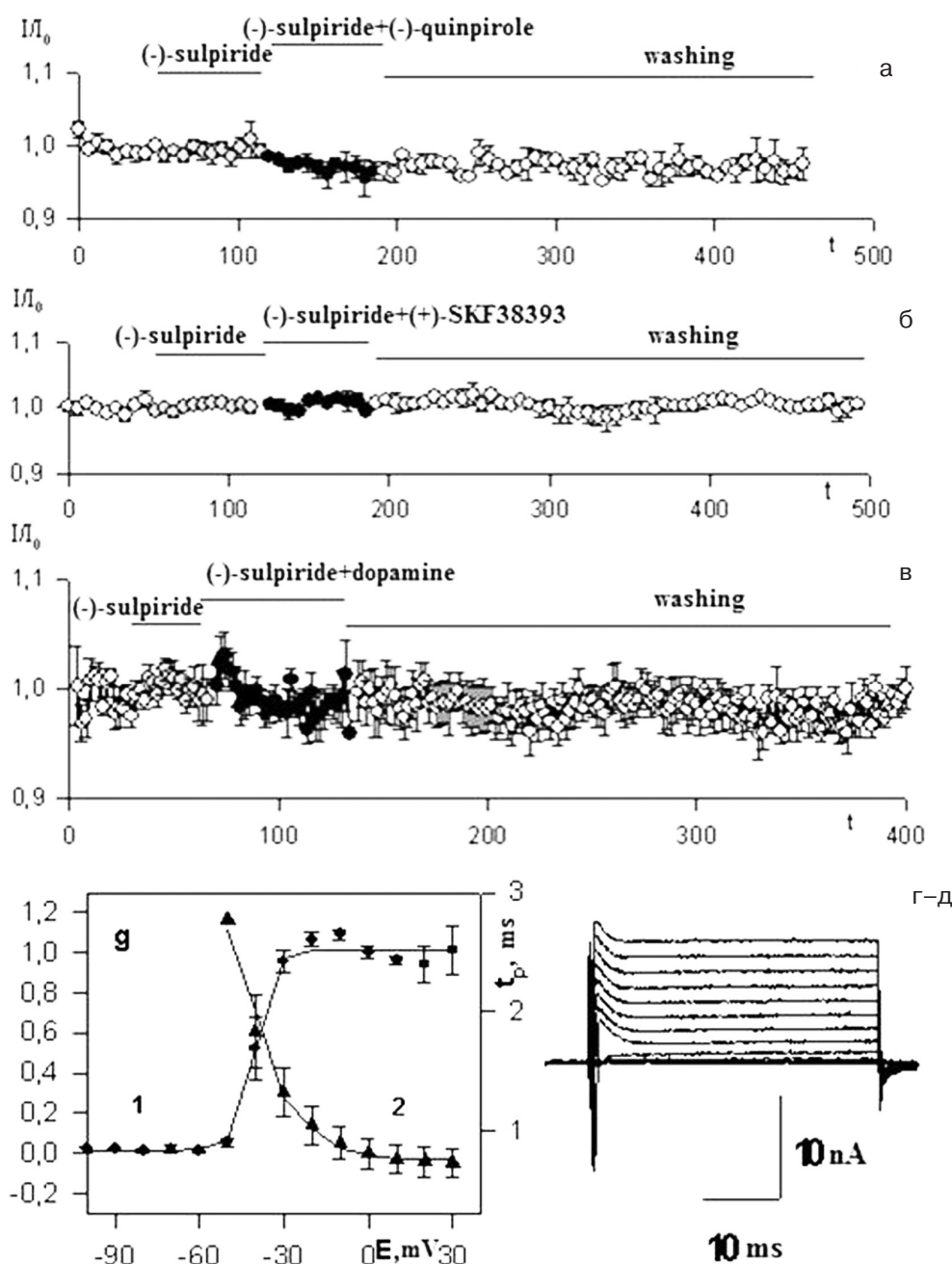
Рисунок 1. Действие антагониста D_2 -рецепторов (-)-сульпирида 10 мкМ на эффекты, вызванные агонистами дофамина 10 мкМ, на пиковую амплитуду потенциалактивированных Na^+ -токов мультиполярных нейронов спинного мозга пескоройки: а — полная блокада антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпиридом 10 мкМ эффекта агониста D_2 -рецепторов (-)-квинпирила 10 мкМ с преинкубацией антагониста. Данные усреднены по 5 клеткам ($p > 0,05$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации (-)-квинпирила 10 мкМ. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). б — полная блокада антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпиридом 10 мкМ эффекта агониста D_2 -рецепторов (+)-SKF-38393 10 мкМ с преинкубацией антагониста. Данные усреднены по 6 клеткам ($p > 0,05$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации (+)-SKF-38393 10 мкМ. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). в — отсутствие действия антагониста D_2 -рецепторов (-)-сульпирида 10 мкМ на эффект дофамина 10 мкМ (уменьшение амплитуды). Данные усреднены по 8 клеткам ($p < 0,01$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации дофамина 10 мкМ. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). г — пример увеличения пиковой амплитуды Na^+ -тока антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпирида 10 мкМ эффекта вызванного дофамином 10 мкМ

на 6 нейронах ($p = 0,02$). Простое взвешенное отклонение или размах вариации при действии дофамина на амплитуду потенциал-активируемых Na^+ -токов составил $9,9 \pm 2,5\%$, а в контроле — $0,2 \pm 0,5\%$. Совместная аппликация (-)-сульпирида 10 мкМ и дофамина 10 мкМ вызвала уменьшение амплитуды Na^+ -токов на $18,0 \pm 10,8\%$ на 8 нейронах ($p < 0,01$) (рис. 1 в) и увеличение — на $17,8 \pm 8,6\%$ на 8 нейронах ($p < 0,003$) (рис. 1 г). Восстановление амплитуды Na^+ -тока после отмыва дофамина и (-)-сульпирида составило $87,1 \pm 5,4\%$ в случае уменьшения амплитуды Na^+ -тока, и $100,5 \pm 2,2\%$ в случае ее увеличения. В контроле было показано, что (-)-сульпирид 10 мкМ не оказывает действия на амплитуду потенциалактивируемых Na^+ -токов ($n = 11$, $p > 0,05$). Эффект, вызванный агонистом D_1 -рецепторов (+)-SKF-28393 10 мкМ, полностью блокировался (-)-сульпиридом 10 мкМ ($n = 6$, $p > 0,05$) (рис. 1 б). И эффекты, вызванные агонистом D_2 -рецепторов (-)-квинпирилом 10 мкМ полностью блокировались (-)-сульпиридом 10 мкМ ($n = 5$, $p > 0,05$) (рис. 1 а). Эти данные дают основание считать, что на мембранах нейронов спинного мозга пескоройки дофаминовые рецепторы представлены в виде мономерных и димерных протеинов.

В настоящее время, для определения связывания агонистов или антагонистов с G-протеинсвязанными рецепторами мономерной или димерной структуры используется рецептор-димер кооперативный индекс: $DCA = \log(4 KDA1/KDA2)$, где $KDA1$ — равновесная константа диссоциации для связывания первой лигандной молекулы (агониста/или антагониста/или инвертированного агониста) с рецептором; $KDA2$ — равновесная константа для связывания второй лигандной молекулы (агониста/или антагониста/или инвертированного агониста) с рецептором [3, 7].

Элементарный расчет показывает, если $KDA1/KDA2$ эквивалентно 4, то две субъединицы рецепторов связываются в димерную структуру [4]. Равновесная константа диссоциации (KD) для связывания селективного D_2 -антагониста (-)-сульпирида с дофаминовым D_2 -рецептором составляет 0,1 нМ [6]. Равновесная константа диссоциации (KD) для связывания дофамина с дофаминовым D_2 -рецептором составляет 1,5 нМ; для селективного D_2 -агониста квинпирила — 5 нМ; для селективного D_1 -агониста (+)-SKF-28393 — 0,4–0,9 нМ [6].

При исследовании влияния дофамина на амплитуду потенциалактивируемых Na^+ -токов нами было показано, что эффекты дофамина 10 мкМ на пиковую амплитуду Na^+ -тока не только не блокировались (-)-сульпиридом, но и потенцировались им в обоих случаях. Подставляем в формулу рецептор-димер кооперативного индекса значения KD дофамина и KD (-)-сульпирида. $DCA = \log(4 \times 1,5/0,1)$. Соотношение 1,5/0,1 эквивалентно 4, следовательно, дофаминовые D_1 -и D_2 -рецепторы на мембранах мультиполяр-



■ Рисунок 2. Действие антагониста D_2 -рецепторов (-)-сульпирида 10 μ М на эффекты, вызванные агонистами дофамина 10 μ М, на амплитуду потенциала активированных K^+ -токов мультиполярных нейронов спинного мозга пескоройки и основные кинетические характеристики Na^+ -тока: а — полная блокада антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпиридом 10 μ М эффекта агониста D_2 -рецепторов (-)-квинпиrolа 10 μ М с преинкубацией антагониста. Данные усреднены по 5 клеткам ($p > 0,05$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации (-)-квинпиrolа 10 μ М. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). б — полная блокада антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпиридом 10 μ М эффекта агониста D_2 -рецепторов (+)-SKF-38393 10 μ М с преинкубацией антагониста. Данные усреднены по 5 клеткам ($p = 0,2$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации (+)-SKF-38393 10 μ М. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). в — полная блокада антагонистом D_2 -рецепторов (-)-сульпиридом 10 μ М эффекта дофамина 10 μ М с преинкубацией антагониста. Данные усреднены по 6 клеткам ($p > 0,05$). Данные нормированы по амплитуде тока (I_0), регистрируемого в норме, до аппликации (+)-SKF-38393 10 μ М. По оси абсцисс — время в секундах, по оси ординат — соотношение I/I_0 (нА/нА). г — основные кинетические характеристики потенциала активированного Na^+ -тока мультиполярных нейронов спинного мозга пескоройки. 1 — нормированная кривая проводимости Na^+ -тока (g). По осям: по абсциссе — E , потенциал в мВ; по ординате — g, нормированная кривая проводимости Na^+ -тока. 2 — зависимость времени до пика натриевого тока от потенциала на мембране (t_p). Нулевой точкой отчета времени принят момент начала деполяризирующего стимула. По осям: по абсциссе — E , потенциал в мВ; по ординате — (t_p), время до пика в мс

ных нейронов спинного мозга пескоройки связались в димерную структуру при исследовании совместного действия дофамина и (-)-сульпирида на амплитуду потенциалактивируемых Na^+ -токов. Подставляем в формулу рецептор-димер кооперативного индекса значения $\text{KD} (-)$ -квинпирила и $\text{KD} (-)$ -сульпирида. $\text{DCA} = \log(4 \times 5/0,1)$. Соотношение $5/0,1$ не эквивалентно 4, следовательно, (-)-квинпирил и (-)-сульпирид связались с дофаминовыми рецепторами мономерной структуры. Для связывания (+)-SKF-28393 и (-)-сульпирида $\text{DCA} = \log(4 \times 0,4 - 0,9/0,1)$. Соотношение $0,4 - 0,9/0,1$ не эквивалентно 4, следовательно, (+)-SKF-28393 и (-)-сульпирид связались с дофаминовыми рецепторами мономерной структуры.

Показано, что в физиологических концентрациях (10 мкМ) (-)-сульпирид проявляет свойства либо агониста (связывание с димерной структурой рецептора), либо антагониста (связывание с мономерной структурой рецептора) дофамина. Это подтверждено как электрофизиологическими исследованиями, так и расчетными (математическими) данными.

На тех же исследованных нейронах (рис. 2 д) было изучено действие физиологических концентраций антагониста D_2 -рецепторов (-)-сульпирида (10 мкМ) на эффекты агонистов дофаминовых рецепторов на амплитуду потенциалактивируемых K^+ -токов. Исследование влияния на амплитуду потенциалактивируемых K^+ -токов проводили при командном потенциале +40 мВ. Аппликация (+)-SKF-38393 10 мкМ уменьшала амплитуду K^+ -тока на $14,3 \pm 4,3\%$ ($n=6$, $p < 0,01$). Восстановление амплитуды K^+ -тока после отмыва (+)-SKF-38393 составило $100,0 \pm 1,0\%$. Аппликация (-)-квинпирила 10 мкМ уменьшала амплитуду K^+ -тока на $5,5 \pm 2,5\%$ на 11 нейронах ($p < 0,01$) и увеличивала на $13,2 \pm 3,0\%$ на 6 нейронах ($p < 0,01$). Восстановление амплитуды K^+ -тока после отмыва составило $100,0 \pm 1,5\%$ в случае уменьшения амплитуды K^+ -тока, и $100,0 \pm 1,0\%$ — в случае ее увеличения. В контрольных тестах, когда вместо (-)-квинпирила подавали физиологический раствор, подобные эффекты не наблюдали: уменьшение амплитуды K^+ -тока составило $0,49 \pm 0,07\%$ ($n=15$, $p=0,003$), а увеличение — $0,65 \pm 0,19\%$ ($n=7$, $p=0,01$). Простое взвешенное отклонение или размах вариации при действии (-)-квинпирила на амплитуду потенциал-активируемых K^+ -токов составил $8,4 \pm 1,0\%$, а в контроле — $0,1 \pm 0,1\%$. Эффект, вызванный агонистом D_1 -рецепторов (+)-SKF-28393 10 мкМ полностью блокировался (-)-сульпиридом 10 мкМ ($n=5$; $p=0,2$) (рис. 2 б). Эффект, вызванный агонистом D_2 -рецепторов (-)-квинпирилом 10 мкМ полностью блокировался (-)-сульпиридом 10 мкМ ($n=5$; $p > 0,05$) (рис. 2 а). Эффект вызванный дофамином 10 мкМ полностью блокировался (-)-сульпиридом 10 мкМ ($n=6$; $p > 0,05$) (рис. 2 в). В контроле было показано, что (-)-сульпирид 10 мкМ не оказывает действия на амплитуду потенциалактивируемых K^+ -токов ($n=16$; $p > 0,05$).

Зависимость времени до пика Na^+ -тока при командном потенциале -50 мВ (t_p) = 1,5 мс (рис. 2 г). Зависимость времени до пика K^+ -тока при командном потенциале +40 мВ (t_p) = 5 мс. Таким образом, образование димерного (гетеромерного) комплекса из дофаминовых рецепторов на мембранах нейронов центральной нервной системы позвоночных происходит в период 1,5 мс. Как известно, димерные (гетеромерные) структуры образуются из всех типов рецепторов, представленных в центральной нервной системе позвоночных [4, 5]. Если предположить, что вместо искусственного антагониста, который мы использовали, со вторым рецептором димерного комплекса свяжется физиологический нейромедиатор/нейромодулятор, а с первым рецептором вместо дофамина любой нейромедиатор — физиологическая роль образования димерного (гетеромерного) комплекса в центральной нервной системе позвоночных животных заключается в кодировании информации в виде двоичного кода.

Таким образом, если двоичный код является основой деятельности центральной нервной системы и, в частности, головного мозга человека, взаимосвязь нейронов между собой целесообразно описывать в терминах бинарной логики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alexander S. P. H., Mathie A., Peter J. A. Guide to receptors and channels // Brit. J. Pharmacol. — 2006. — Vol. 147, N 3. — P. S32–36.
2. Barreiro-Iglesias A., Villar-Cerviño V., Anadón R. et al. Descending brain-spinal cord projections in a primitive vertebrate, the lamprey: cerebrospinal fluid-contacting and dopaminergic neurons // J. Comp. Neurol. — 2008. — Vol. 511, N 6. — P. 711–723.
3. Casadó V., Cortés A., Ciruela F. et al. Old and new ways to calculate the affinity of agonists and antagonists interacting with G-protein-coupled monomeric and dimeric receptors: the receptor-dimer cooperativity index // Pharmacol. Ther. — 2007. — Vol. 116, N 3. — P. 343–354.
4. Casadó V., Ferrada C., Bonaventura J. et al. Useful pharmacological parameters for G-protein-coupled receptor homodimers obtained from competition experiments. Agonist-antagonist binding modulation // Biochem. Pharmacol. — 2009. — Vol. 78, N 12. — P. 1456–1463.
5. Franco R., Casado V., Cortes A. et al. G-protein-coupled receptor heteromers: function and ligand pharmacology // Brit. J. Pharmacol. — 2008. — Vol. 153. — P. S90–S98.
6. Seeman P. The Patent Description and Claims data below is from USPTO Patent Application 20080181848. Method to detect dopamine receptors in the functional d2 high state.
7. Watson S., Arkinstall S. The G-protein linked receptor. Facts Book. — London: Academic Press, 1994. — P. 96–110.

THE HUMAN BRAIN IS WORKING IN THE SYSTEM OF DUAL CODING: A HYPOTHESIS

Bukinich A. A., Shabanov P. D.

♦ **Summary:** How the human brain is working is up to now unclear. Using singular neuron as an object, and pharmacological agents as a tool the neuron activity in general in the mammalian CNS has been described. The basis of all

investigations was the study of dimmer (heteromer) structures associated with G-coupled receptor proteins on the surfaces of neuron membranes isolated from the own usual circle. We can organize the recombinant movement by means of physiological concentrations of pharmacological reagents if these processes were lasting in the network neurons native brain. That is, the ideal conditions for the processes generation in the neural impulse were reconstructed.

◆ **Key words:** brain; dopamine; dimmer structure of receptors.

◆ Информация об авторах

Букинич Анна Александровна — к. м. н., профессор, научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: abukinich@yahoo.com.

Шабанов Петр Дмитриевич — д. м. н., профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Bukinich Anna Aleksandrovna — PhD (Biochemistry), researcher, Anichkov Dept. of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12. E-mail: abukinich@yahoo.com.

Shabanov Petr Dmitriyevich — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Anichkov Dept. of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.