

Адапционная память палочек сетчатки: проблема световой адаптации и последовательные образы

*Ротов А.Ю., Астахова Л.А., Фирсов М.Л., Говардовский В.И.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, [*rotovau@gmail.com](mailto:rotovau@gmail.com)

1. ВВЕДЕНИЕ

Высокая чувствительность палочек сетчатки позволяет им надежно реагировать на одиночные кванты света. При этом они сохраняют работоспособность при световых потоках до 10^5 квантов в секунду, что поддерживается эффективной системой световой адаптации, регулирующей каскад фототрансдукции.

Световая адаптация основана на отрицательной обратной связи, реализуемой через изменения внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Надежно идентифицированы три контура кальциевой регуляции (Рис.1) – ускорение выключения фотоактивированного родопсина, ускорение синтеза цГМФ гуанилатциклазой и повышение сродства цГМФ-управляемых ионных каналов к нуклеотиду [1]. Известно, однако, что суммарная регуляция чувствительности этими механизмами недостаточна для объяснения полного диапазона работы палочки и существуют еще как минимум два высокоэффективных механизма адаптации. Один из них регулирует время жизни активированной фосфодиэстеразы [2], а для второго мишень регуляции остается неизвестной [3]. Неизвестны также посредники этих регуляций.

Начав экспериментальное исследование неизученных механизмов световой адаптации, мы обнаружили новый феномен, который и описан в настоящей работе. Работа была выполнена на палочках озерной лягушки (*Rana ridibunda*). Фототок одиночных клеток регистрировали при помощи всасывающей пипетки.

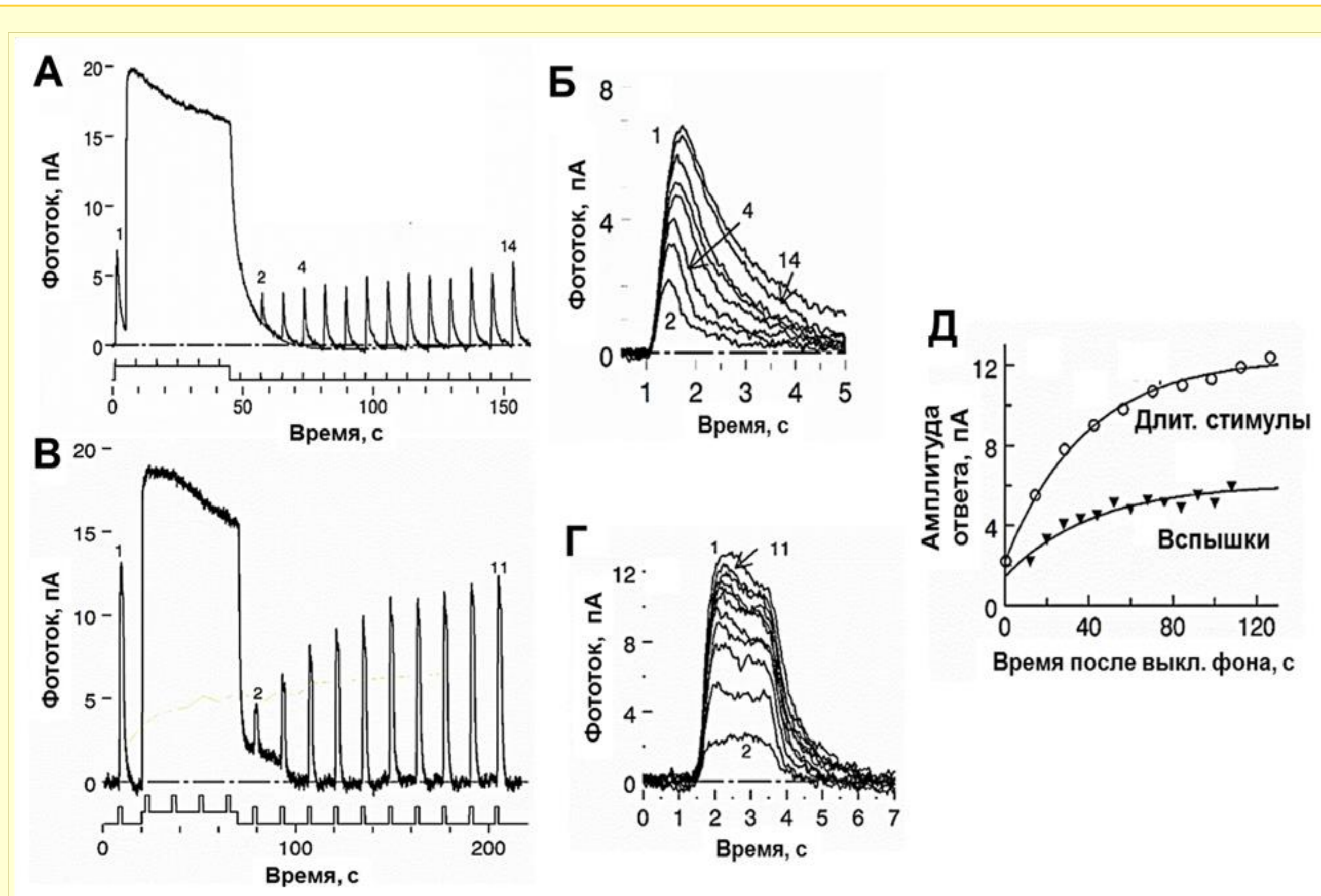


Рис. 2. Феномен «адапционной памяти». Ответ палочки лягушки на периодические 2 мс вспышки (А), или 2 с стимулы (В) с наложенным 40-секундным адаптирующим фоном. Под кривыми показана отметка стимула. (Б, Г) изменение амплитуды и кинетики ответов на вспышки и длительные стимулы, выделенных из участков, соответствующих темновой адаптации на записях (А) и (В), соответственно. (Д) сравнение хода темновой адаптации при тестировании 2 мс вспышками и 2с стимулами. Сплошные кривые – одноэкспоненциальные аппроксимации с постоянными времени 39 с для длительных стимулов и 42 с для коротких вспышек.

3. «АДАПЦИОННАЯ ПАМЯТЬ» И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЕ ОБРАЗЫ

Описанный феномен дополнительно усложняет проблему объяснения механизмов световой адаптации. «Адапционная память» предполагает существование длительной модификации компонентов каскада фототрансдукции, возможно, не зависящей от Ca^{2+} . Исследование этих адапционных механизмов должно стать задачей дальнейшей работы.

Следует отметить, что поведение палочки после выключения светоадаптирующего фона напоминает феноменологию последовательных образов (Рис.3). Постепенное возвращение мембранного тока к темновому уровню могло бы соответствовать затуханию положительного последовательного образа, а длительное снижение чувствительности фоторецепторов к добавочной стимуляции может обеспечить возникновение негативного образа. Вопрос об источниках последовательных образов в глазу остается нерешенным, однако наши результаты показывают, что необходимые для их генерации свойства обнаруживаются уже на самом первом уровне передачи зрительной информации – в выходных сигналах фоторецепторов.

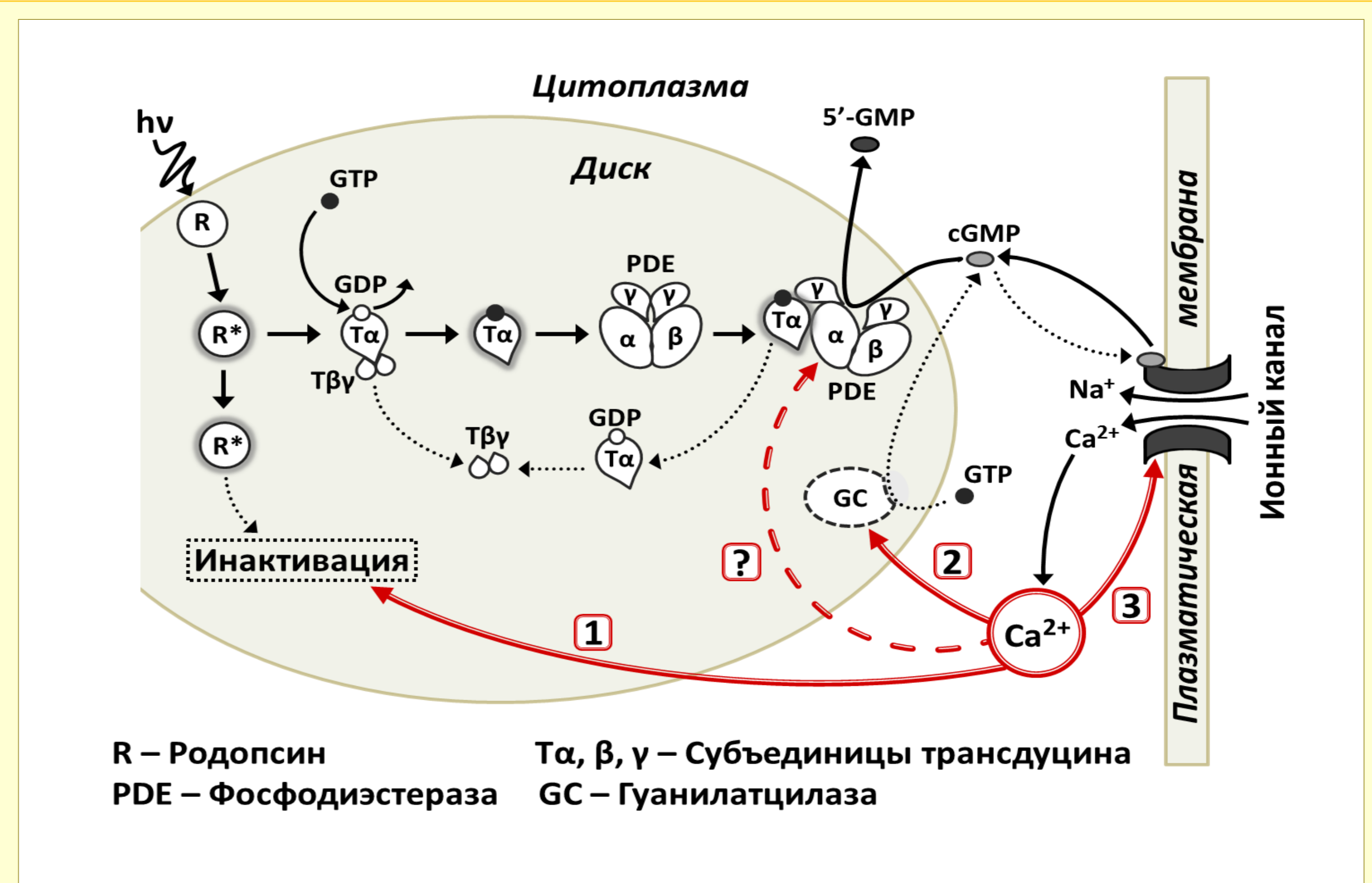


Рис. 1. Схема возбуждения и адаптации каскада фототрансдукции.

R, светочувствительный GPCR белок родопсин. R*, фотоактивированный родопсин. T, гетеротримерный ГТФ-связывающий белок трансдуцин. PDE, фосфодиэстераза циклического ГМФ. GC, гуанилатциклаза. цГМФ-управляемые катионные каналы плазматической мембраны. Красные стрелки 1, 2 и 3 показывают надежно установленные цепи Ca^{2+} обратной связи, ускоряющие фотоответ и управляющие световой адаптацией. Штриховая красная стрелка показывает путь регуляции выключения PDE, посредник которой неизвестен.

2. ФЕНОМЕН «АДАПЦИОННОЙ ПАМЯТИ»

В ходе экспериментального протокола палочку периодически стимулировали короткими вспышками (2 мс или 2 с, λ_{max} 525 нм), вызывающими ответ, составляющий примерно 30-50% от насыщенного. После первой вспышки, поданной в состоянии темновой адаптации, включали фоновый стимул длительностью 40 с.

После выключения фона фототок возвращается к темновому уровню и в то же время градуально восстанавливаются ответы на вспышки. Однако в момент формально полного восстановления темнового тока через 25 с после выключения фона амплитуда ответа на вспышки составляет только примерно половину от исходной темноадаптированной (вспышка 4 на Рис.2, А, Б). Полное восстановление чувствительности не достигается даже через полторы минуты темновой адаптации. Мы назвали этот эффект «адапционной памятью». В серии экспериментов, вместо тестовых вспышек подавали стимулы длительностью 2 с (Рис.2, В, Г). Эффект адапционной памяти оказался более выраженным для длительных стимулов, чем в экспериментах с короткими 2 мс вспышками (Рис.2, Д).

Сравнение ответов на короткие вспышки в состоянии темновой адаптации и после выключения фона показывает, что в ходе адаптации крутизна переднего фронта ответов не изменяется. Из этого следует, что при адаптации не происходит изменения усиления в каскаде, а напротив, замедляются процессы выключения каскада, возвращаясь к своей «темновой» кинетике. В существующей схеме восстановление фототока должно соответствовать восстановлению «темновой» концентрации Ca^{2+} и возвращению всех компонентов каскада в темноадаптированное состояние. В действительности оказалось, что чувствительность палочки остается сниженной, а кинетика ответа существенно ускоренной еще более минуты.

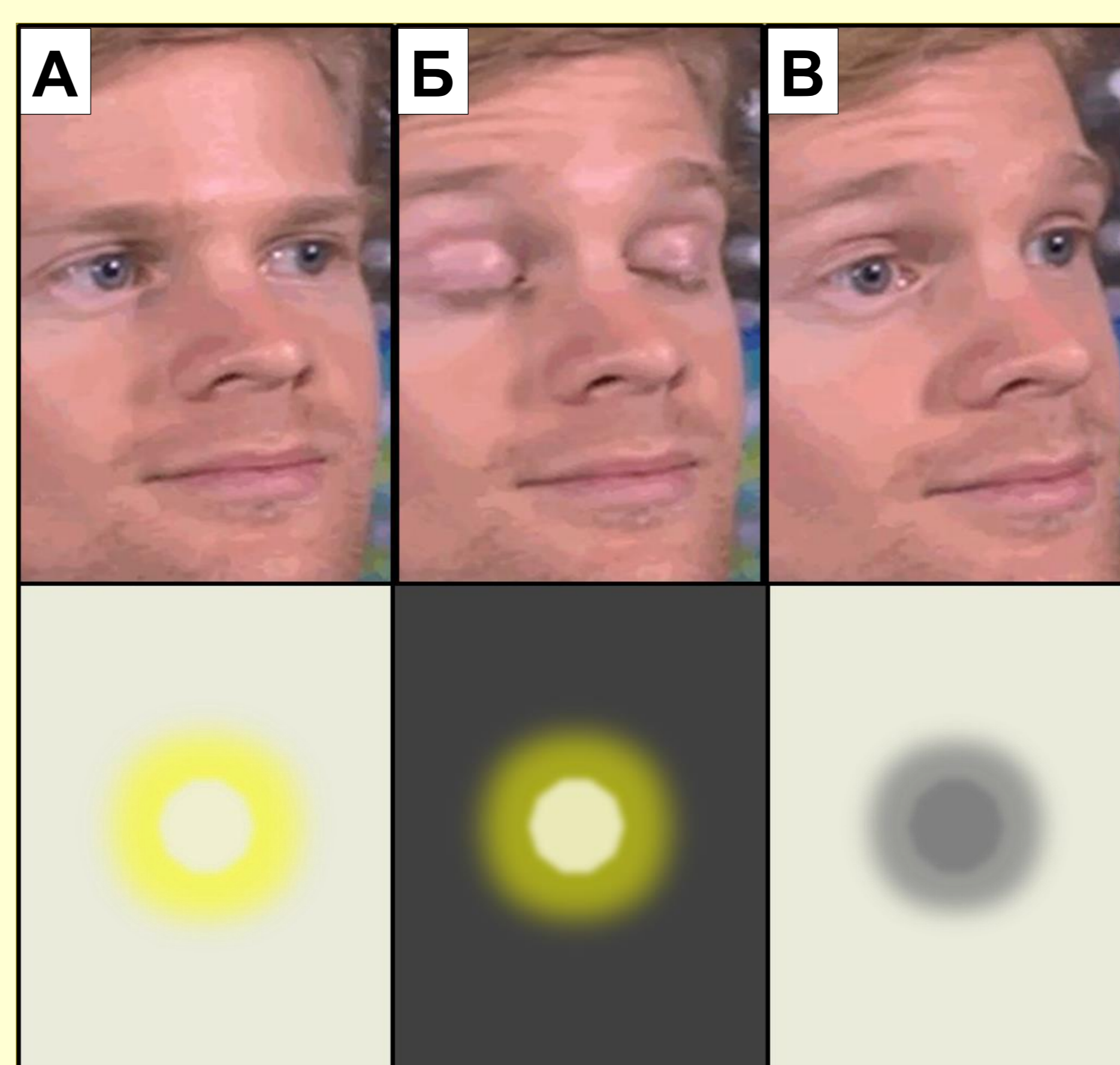


Рис. 3. Феноменология последовательных образов. Образы возникают после действия на сетчатку интенсивных локальных стимулов (А). Выключение такого индуцирующего стимула оставляет светлое пятно, которое постепенно затухает и в конце концов исчезает – положительный последовательный образ (Б). При наличии стационарного освещения достаточной обширной области зрительного поля, за затуханием положительного образа возникает отрицательный образ – темное пятно на светлом фоне (В).

ИСТОЧНИКИ:

1. Arshavsky V.Y., Burns M.E. Photoreceptor signaling: supporting vision across a wide range of light intensities. *J. Biol. Chem.* 287(3): 1620-1626. 2012.
2. Astakhova L. A., Firsov M. L., Govardovski, V. I. Kinetics of turn-offs of frog rod phototransduction cascade. *J. Gen. Physiol.* 132(5): 587-604. 2008.
3. Calvert P. D., Govardovskii V. I., Arshavsky V. Y., Makino C. L. Two temporal phases of light adaptation in retinal rods. *J. Gen. Physiol.* 119(2):129-146. 2002.