

ФОТОТРАНСДУКЦИЯ В СЕТЧАТКЕ БРЮХОНОГОГО МОЛЛЮСКА ВКЛЮЧАЕТ УПРАВЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ

Жуков Валерий Валентинович, доцент Института живых систем,
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта»

Сафонов Михаил Витальевич, аспирант Института живых систем,
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта»

Аннотация. Исследовано влияние нарушения различных компонентов фототрансдукции на элетроретинограмму *Lymnaea stagnalis*. Предполагается, что в фоторецепторах сетчатки моллюска преобразование энергии поглощенного кванта света в электрический сигнал включает управление внутриклеточной концентрацией Ca^{2+} .

Ключевые слова: *Lymnaea stagnalis*, сетчатка, фототрансдукция, 2-аминоэтилдифенил, (+)-цис-дилтиазем, метиленовый синий, Cd^{2+} , Ca^{2+} .

Световая чувствительность фоторецепторных клеток животных основана на присутствии в них специализированного зрительного пигмента, связанного с молекулярным механизмом преобразования энергии поглощенного кванта в форму электрического сигнала. В настоящее время сформировано представление о двух основных путях фототрансдукции: гуанилатциклазного и инозитлофосфатного [1]. Первый из них реализуется в основном в сетчатке позвоночных животных. Его активация ведет к уменьшению в цилиарных фоторецепторах концентрации циклической формы гуанозинмонофосфата (цГМФ) и закрытию катионных CNG каналов, что имеет следствием гиперполяризацию мембраны. Инозитлофосфатный путь реализуется, главным образом, в рабдомерных (микровиллярных) фоторецепторах глаз членистоногих. Активация этого пути стимулирует образование инозитол-3-фосфата (ИФ3), что ведет к высвобождению в цитоплазму Ca^{2+} из внутриклеточных депо, открытию катионных TRP каналов и деполяризации мембраны. При этом брюхоногие моллюски – самый крупный по числу видов таксон типа мягкотелых – остается в этом отношении практически не изученным, что, безусловно, ограничивает возможности обобщений относительно путей филогенеза световой чувствительности. Перспективным объектом для изучения механизмов фоторецепции брюхоногих представляется прудовик большой, *Lymnaea stagnalis*, обладающий глазной и кожной световой чувствительностью. Освещение глаза прудовика приводит к деполяризации фоторецепторов сетчатки и возникновению в них тонического импульсного разряда оп-типа. Световая стимуляция кожи моллюска в области пневмостома вызывает фазную off- реакцию в связанном с ней нерве и центральном интернейроне [2]. Исходя из этого, можно предполагать, что фоторецепторы сетчатки и

кожи имеют отличные друг от друга функциональные свойства, в основе которых могут лежать различные пути преобразования светового сигнала.

Ввиду отсутствия аннотированного генома прудовика на данном этапе исследований предпочтение было отдано фармакологическому анализу. Его применение в отношении электрических реакций, а также проявлений оборонительного теневого рефлекса показало, что off-ответ фоторецепторов кожи обеспечивается работой CNG каналов [3]. Используя схожий подход, мы проанализировали электрические реакции микровиллярных фоторецепторов сетчатки глаза *L.stagnalis* на световую стимуляцию.

Эксперименты выполняли на препарате изолированного глаза моллюска с использованием применявшихся ранее технологий и алгоритмов [4]. Исследовали влияние на амплитуду медленной волны электроретинограммы (ЭРГ) следующих веществ: 1) 2-аминоэтилдифенил борат (2-АДБ, блокатор высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что является компонентом фототрансдукции в рабдомерных фоторецепторах); 2) (+)-цис-дилтиазем гидрохлорид (ДТЗ, блокатор CNG каналов, управление которыми является звеном фототрансдукции в цилиарных рецепторах позвоночных); 3) метиленовый синий (МС) как ингибитор гуанилатциклазы; 4) CdCl_2 как блокатор кальциевых каналов. Вещества вводили в физиологический раствор до достижения рабочей концентрации. Полученные результаты представлены на рисунке в виде гистограммы для длительности светового стимула 500 мс ($\lambda_{\text{max}} = 525$ нм), в ответ на которую амплитуда ЭРГ достигает величины, близкой к максимальной для данной интенсивности света.

ДТЗ и МС вплоть до 10^{-4} М не оказывали значимого влияния на ЭРГ, свидетельствуя о том, что ни цГМФ, ни CNG каналы не вовлечены процесс фототрансдукции. Напротив, 2-АДБ 10^{-5} М вызывал статистически значимое уменьшение амплитуды ЭРГ в ответ на вспышки длительностью более 1 мс. Этот эффект был обратимым и исчезал через несколько часов после восстановления исходного физиологического раствора что указывает на специфическое действие фармакологического препарата. Таким образом, возбуждение фоторецепторов моллюска, очевидно, обусловлено повышением концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме. Очевидно, что этот эффект достигается выходом кальция из внутриклеточных депо, так как полное удаление этих ионов из раствора не сказывается заметно на амплитуде ЭРГ [5]. В качестве свидетельства кальциевого компонента фототрансдукции можно рассматривать подавление ЭРГ ионами кадмия, хотя оно проявлялось только при 10^{-3} М. Высвобождение в цитоплазму депонированного Ca^{2+} может регулироваться через активацию рецепторов IP3. Следовательно, можно предположить, что фоторансдукция в микровиллярных рецепторах сетчатки *L.stagnalis* проходит по инозитолфосфатному механизму, принципиально иному, чем тот, что реализуется в коже. Однако такое предположение требует более строгих доказательств.

Работа Сафонова М.В. поддержана грантом БФУ по программе 5-100.

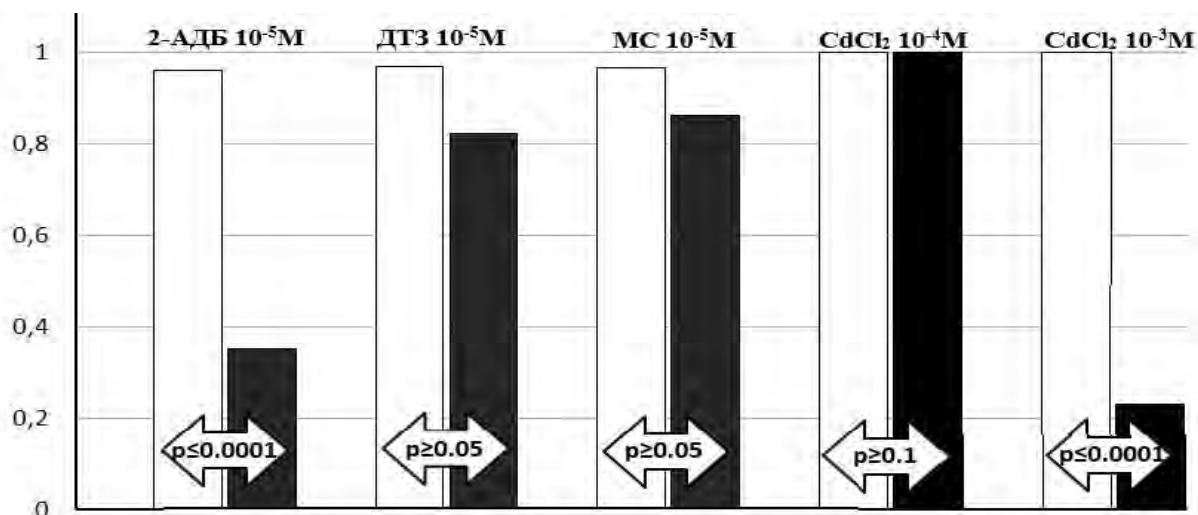


Рисунок 1 - Влияние введения в физиологический раствор фармакологических препаратов на электроретинограмму (ЭРГ) изолированных глаз моллюска *Lymnaea stagnalis*.

Высота столбцов - средние значения амплитуд медленной волны ЭРГ, нормированные относительно максимальных, зарегистрированных в данном опыте (n=10).

Заливка столбцов: белая – физиологический раствор; темная – раствор, содержащий указанные над столбцами препараты. Величина вероятности отсутствия различий (дисперсионный анализ ANOVA) указана на стрелках.

Библиографический список

1. Fain, G.L. Phototransduction and the evolution of photoreceptors / Gordon L. Fain G.L., Roger Hardie, Simon B. Laughlin // *Current Biology*. – V. 20. – 2010. – R114-R124.
2. Takigami, S. Morphological and physiological characteristics of dermal photoreceptors in *Lymnaea stagnalis* / Satoshi Takigami, Hiroshi Sunada, Tetsuro Horikoshi, Manabu Sakakibara // *Biophysics (Nagoya-shi)*. – V.10. – 2014. – P.77-88.
3. Pankey, S. Cyclic nucleotide-gated channels are involved in phototransduction of dermal photoreceptors in *Lymnaea stagnalis* / Sabrina Pankey, Hiroshi Sunada, Tetsuro Horikoshi, Manabu Sakakibara // *J Comp Physiol B*. – V.180(8). – 2010. – P.1205-1211.
4. Жуков, В.В. FMRF-амид уменьшает электрические ответы глаза *Lymnaea stagnalis* на световую стимуляцию / В.В. Жуков, А.Д. Федоренко // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* Т.52. – №5. – 2016. – С.373-376.
5. Жуков, В.В. Электрические реакции глаза *Lymnaea stagnalis* на световую стимуляцию: влияние двухвалентных катионов / В.В. Жуков, А.Д. Федоренко, А.И. Лаврова, Е.Б. Постников // *Ж. эвол. биохим. физиол.* Т. 53. – № 5. – 2017. – С. 360-367.