

Lidija Kržančič Bombek<sup>1</sup>

## Vid: mrežnica, fotoreceptorji in fototransdukcija

*Vision: Retina, Photoreceptors and Phototransduction*

---

### IZVLEČEK

**KLJUČNE BESEDE:** fotoreceptorji, fototransdukcija, rodopsin, transducin, fosfodiesteraza, s cGMP uravnavani kanali CNKX

Človeška mrežnica vsebuje dve vrsti fotoreceptorjev: paličnice in čepnice. Prve so zelo občutljive in omogočajo gledanje v pogojih šibke osvetljenosti, druge so odgovorne za gledanje podnevi in zaznavanje barv. Absorpcija fotonov v fotoreceptorjih povzroči konformacijsko spremembo in aktivacijo molekul vidnega pigmenta rodopsina, ta pa aktivira signalno zaporedje, ki vodi v biokemični, električni in sekretorni celični odziv. Prvi korak v fototransdukciji predstavlja aktivacija signalne molekule transducina, ki nato aktivira fosfodiesterazo. Slednja hidrolizira cGMP, zato se cGMP, vezan na s cGMP uravnavane kanale, skozi katere v temi dotekajo predvsem kationi Na<sup>+</sup> in Ca<sup>2+</sup> ter vzdržujejo fotoreceptor pri membranskem potencialu okoli -40 mV, sprošča z vezavnih mest, kar zmanjša verjetnost odprtja teh kanalov. Zaradi zmanjšane prevodnosti teh kanalov in posledično manjšega dotoka kationov v citosol se ob sočasnem nespremenjenem izmenjevanju ionov skozi druge kanale in izmenjevalce membrana fotoreceptorja hiperpolarizira. Posledično se na terminalnem odrastku zapro od napetosti odvisni kanali za Ca<sup>2+</sup>, kar zmanjša izločanje živčnega prenašalca glutamata. Po vsakem odgovoru na svetlobni dražljaj se morajo aktivirane komponente fototransdukcijske kaskade vrniti v svoje osnovno stanje, za kar skrbita dva mehanizma. Prvi omogoči deaktivacijo in razgradnjo aktiviranega rodopsina, drugi deaktivacijo kompleksa  $\alpha$ -podenote transducina in fosfodiesteraze. Vzporedno z inaktivacijo membranskih komponent poteka v citosolu sinteza cGMP z gvaničilciklazo, ki vzpostavi njegovo osnovno koncentracijo. Na trajajočo osvetlitev se fotoreceptorji adaptirajo s pomočjo uravnavanja aktivnosti encimov gvaničilciklaze in rodopsin kinaze ter sprememb v občutljivosti s cGMP uravnavanih kanalov in bledenjem fotopigmentov, ki jih posreduje spremenjena znotrajcelična koncentracija ionov Ca<sup>2+</sup>.

---

### ABSTRACT

**KEY WORDS:** photoreceptors, phototransduction, rhodopsin, transducin, phosphodiesterase, cGMP regulated channels

Human retina contains two types of photoreceptors. Rods are very sensitive and enable vision in dim light conditions, whereas cones mediate daylight vision and color detection. In photoreceptors, absorption of photons causes conformational change and activation of visual pigment rhodopsin which in turn activates signalling cascade that leads to biochemical, electric and secretory cell response. The first step in phototransduction is activation of signalling G-protein transducin which activates phosphodiesterase. The later hydrolyses cyclic guanosine monophosphate (cGMP) thus lowering its concentration and decreasing open probability of cGMP-gated channels. In darkness, Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ions enter the photoreceptor through cGMP-gated channels maintaining membrane potential at approximately -40 mV. Due to

---

<sup>1</sup> Asist. dr. Lidija Kržančič Bombek, univ. dipl. biol., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor; lidija.krizanic@uni-mb.si

decreased cGMP these channels close, lowering the cytosolic cation concentration. Simultaneously, the ionic fluxes through other channels and exchangers remain unaffected. This leads to photoreceptor hyperpolarisation which is electrotonically conducted to the synaptic terminal causing closure of voltage dependent  $Ca^{2+}$  channels and decrease in the exocytosis of neurotransmitter glutamate. After having responded to a light stimulus, the activated components of the phototransduction cascade have to return to their ground state, which is achieved through two mechanisms. The first mechanism enables deactivation and degradation of the activated rhodopsin, whereas the second mechanism deactivates complexes of activated transducin  $\alpha$ -subunit and phosphodiesterase. Simultaneously, cytoplasmic enzyme guanylyl cyclase is synthesizing cGMP thus restoring its basal concentration. Photoreceptors adapt to prolonged illumination by modulating the activity of guanylyl cyclase and rhodopsin kinase as well as by changing sensitivity of cGMP-gated channels and bleaching of photopigments. All these effects are mediated by changes in intracellular  $Ca^{2+}$  concentration.

## UVOD

Svetlobni žarki, ki vstopijo v oko, se uklonijo na roženici in leči ter padejo na mrežnico, kjer jih niz specializiranih celic pretvori v električne signale. Ti v obliki akcijskih potencialov potujejo po optičnem živcu v lateralno genikulatno jedro in od tam v višje centre v možganih, ki informacije obdelajo.

V začetnem delu prispevka bo na kratko povzeta zgradba mrežnice in osnovne fiziološke značilnosti vidnih čutilnih celic – fotoreceptorjev. V nadaljevanju bo govora o nastanku električnega signala v fotoreceptorju – fototransdukciji o končanju fototransdukcijske kaskade ter o vlogi znotrajcelične koncentracije ionov  $Ca^{2+}$  pri adaptaciji fotoreceptorjev na močno osvetlitev.

## ZGRADBA MREŽNICE

Oko je zgrajeno tako, da usmeri svetlobne žarke v žarišče (fokus) na mrežnici ob minimalnem popačenju slike. V sprednjem delu očesnega zrkla roženica (lat. *cornea*) in leča sodelujeta pri usmerjanju svetlobe na mrežnico. Roženica s svojo ukrivljenostjo in višjim lomnim količnikom od zraka prispeva približno dve tretjini loma svetlobe, preostanek loma svetlobe pa omogoči leča, katere ukrivljenost se spreminja s pomočjo ligamentov, pripetih na radialno ležeče ciliarne mišice.

Mrežnica je del centralnega živčnega sistema, zato ima podobno sinaptično organizacijo kot druge strukture tega sistema. Vsebu-

je celice pigmentnega epitela, oporne celice (Muellerjeve celice in celice nevroglije) in pet glavnih vrst živčnih celic (fotoreceptorje, bipolarne, horizontalne, amakrine in ganglijske celice), ki so anatomsko urejene v plasti oziroma sklade in med seboj vertikalno in lateralno komunicirajo. Muellerjeve celice tesno sodelujejo s fotoreceptorji, saj glukozo iz krvi pretvarjajo večinoma v laktat, ki ga izločajo v zunajcelični prostor, tam pa ga privzamejo fotoreceptorji in ga oksidirajo v Krebsovem ciklu. Poleg tega Muellerjeve celice sodelujejo pri pretvorbi glutamata, izločenega iz fotoreceptorjev, v glutamin ter pri metabolizmu amonija in nekaterih aminokislin (1).

Večplastna mrežnica (lat. *retina*) (slika 1) na notranji strani zadnjega dela očesnega zrkla sestoji iz zunanje plasti, imenovane pigmentni epitel, in večplastne notranje nevralne plasti.

## Pigmentni epitel

Pigmentni epitel je enoslojen sklad kubičnih celic, ki opravljajo mnogo nalog, ključnih za ohranjanje zdravja mrežnice (2). Apikalna membrana celic pigmentnega epitela je nagubana v obliki mikrovilov in je v stiku z zunanji segmenti fotoreceptorjev, bazolateralna membrana pa se dotika Bruchove membrane, ki pigmentni epitel ločuje od endotelija kapilar. Preko celic pigmentnega epitela poteka transport ionov, vode in metabolnih odpadnih produktov iz mrežnice v kri, v obratni smeri pa iz krvi do fotoreceptorjev poteka trans-

port hranil, kot so glukoza, retinol in maščobne kisline.

Celice pigmentnega epitela vsebujejo temni pigment melanin, katerega glavna naloga je absorpcija svetlobe, ki prodre mimo fotoreceptorjev (3, 4). Na ta način pigmentni epitel varuje fotoreceptorje pred nespecifičnim vzdraženjem, ki bi nastalo kot posledica odboja in razpršitve svetlobe znotraj očesnega zrkla. Dodatne naloge pigmentnega epitela so tudi izločanje različnih rastnih in imunosupresivnih faktorjev (5, 6).

Ena od pglavitnih nalog pigmentnega epitela je nenehno izmenjevanje retinala med celicami pigmentnega epitela in fotoreceptorji. Slednji namreč niso sposobni izomerizacije all-*trans*-retinala, ki nastane po absorpciji fotonov, nazaj v 11-*cis*-retinal. Za ohranjanje vzdražnosti fotoreceptorjev je zato nujen nenehen transport all-*trans*-retinala iz fotoreceptorjev v celice pigmentnega epitela, kjer se reizomerizira v 11-*cis*-retinal in transportira nazaj v fotoreceptorje. Ta ciklični proces se imenuje retinoidni ali retinalov cikel (7).

Druga pomembna vloga celic pigmentnega epitela je sodelovanje pri obnovi fotoreceptorjev v obliki fagocitoze diskov najbolj distalnega dela fotoreceptorjev (8, 9). Zunanje segmente fotoreceptorjev obdajo mikrovili celic pigmentnega epitela in jih razgradijo, esencialne snovi, kot je retinal, pa reciklirajo in transportirajo nazaj v fotoreceptorje, kjer se uporabijo za sintezo novih diskov.

## Nevralni del mrežnice

Nevralni del mrežnice sestavlja devet skladov celic oziroma njihovih odrastkov. Neposredno ob pigmentnem epitelu je sklad fotoreceptorjev (paličnic in čepnic), ki mu v smeri proti sredini očesnega zrkla sledijo zunanji mejni sklad (sestavljajo ga stiki med opornimi Muellerjevimi celicami in fotoreceptorji), zunanji jedrni sklad (iz jedrnih delov fotoreceptorjev), zunanji mrežasti – pleksiformni sklad (iz

nevrinov fotoreceptorjev in dendritov bipolarnih in horizontalnih celic), notranji jedrni sklad (iz opornih Muellerjevih celic in jedrnih delov bipolarnih, horizontalnih in amakričnih celic), notranji mrežasti – pleksiformni sklad (iz nevrinov bipolarnih in amakričnih celic ter dendritov ganglijskih celic), ganglijski sklad (iz jedrnih delov ganglijskih celic), sklad živčnih vlaken (iz aksonov ganglijskih celic, ki oblikujejo vidni živec) in notranji mejni sklad (iz bazalnih lamin opornih Muellerjevih celic) (10).

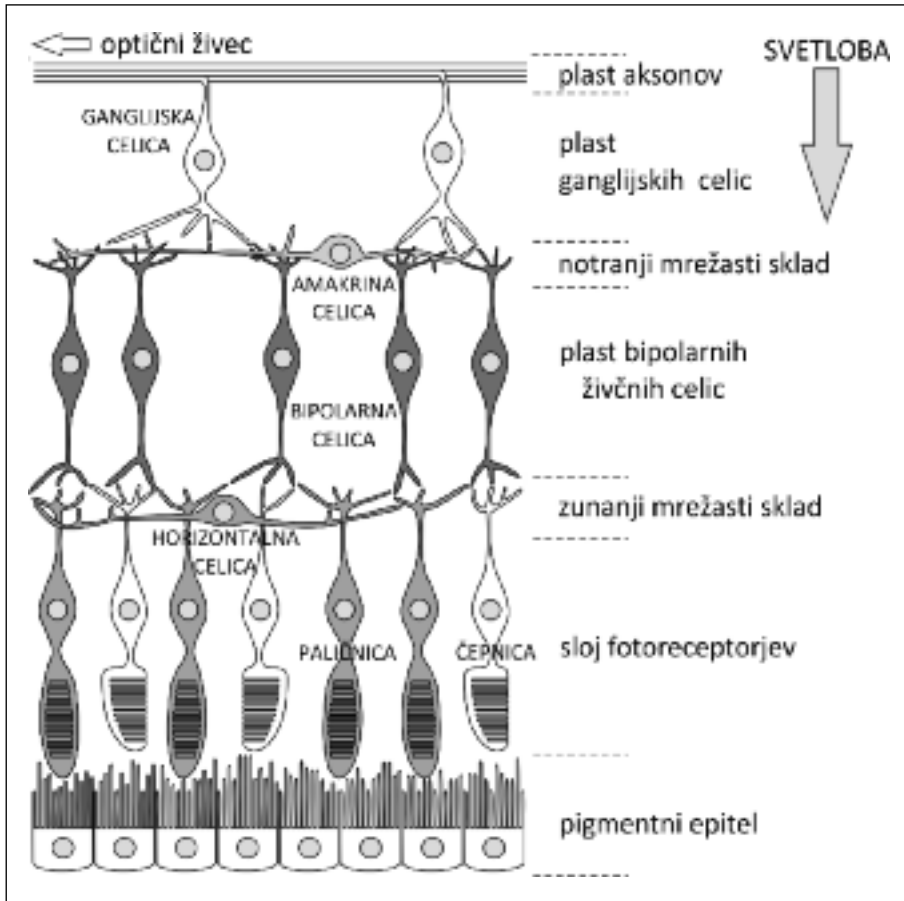
Preden svetlobni žarki, ki padejo v oko, dosežejo fotoreceptorje, morajo prodreti skozi več plasti živčnih celic in njihovih odrastkov (slika 1), zato je pomembno, da so te strukture čim bolj prosojne. Skladno s tem so tudi aksoni ganglijskih celic, ki zapuščajo očesno zrklo v slepi pegi,<sup>1</sup> nemielinizirani, saj bi se v nasprotnem primeru svetloba na mielin-skem<sup>2</sup> ovoju odbijala in sipala ter povzročila vzdraženje sosednjih fotoreceptorjev oziroma popačenje slike na mrežnici. K boljši ostrini slike na mrežnici v področju fovee (lat. *fovea centralis*) pripomore tudi razmaknjenost aksonov ganglijskih celic, da lahko svetloba pade neposredno na fotoreceptorje. Ker je v fovei popačenje slike najmanjše, je zaželeno, da svetloba s predmetov, ki jih želimo videti ostro, pade naravnost v foveo, kar dosežemo s spreminjanjem položaja glave in oči.

Razporeditev fotoreceptorjev na mrežnici ni enakomerna. Čepnice so najbolj zgoščene v fovei ( $\approx 150.000\text{--}200.000/\text{mm}^2$ ) in se proti periferiji redčijo, tako da je njihova gostota  $90^\circ$  lateralno od fovee le še okoli  $10.000/\text{mm}^2$ . Gostota paličnic je največja  $20\text{--}30^\circ$  lateralno od fovee ( $\approx 200.000/\text{mm}^2$ ) in proti periferiji počasi pade na približno tretjino najvišje gostote. V foveoli<sup>3</sup> so paličnice povsem odsotne, na preostalem območju fovee pa redke. V strogem centru foveole prav tako ni čepnic, ki zaznavajo kratke valovne dolžine svetlobe (modro) (11).

<sup>1</sup> Področje na mrežnici, kjer optični živec zapušča mrežnico, se imenuje slepa pega, saj na tem mestu ni fotoreceptorjev in zato svetlobe, ki pade nanj, ne vidimo.

<sup>2</sup> Mielin sestavlja okoli 40 % vode in 60 % suhih snovi, od katerih kar 70–85 % predstavljajo maščobe in 15–30 % beljakovine. Glavna maščobna komponenta mielina je glikolipid galaktocerebrozid.

<sup>3</sup> Foveola je osrednji del centralne fovee (*fovea centralis*) in meri približno  $0,3^\circ$ .



Slika 1. Zgradba mrežnice. Mrežnica vsebuje pet glavnih vrst živčnih celic (fotoreceptorje, bipolarne, horizontalne, amakrine in ganglijske celice), ki so anatomsko urejene v plasti oziroma sklade ter med seboj vertikalno in lateralno komunicirajo.

## FOTORECEPTORJI: PALIČNICE IN ČEPNICE

Človeška mrežnica vsebuje dve vrsti vidnih čutilnih celic, zaradi njihove anatomske strukture imenovanih paličnice in čepnice. Čepnice, ki jih je okoli 6–7 milijonov, so namenjene gledanju podnevi, zato so ljudje, pri katerih pride do okvare čepnic, z medicinskega vidika slepi. Paličnice, ki jih je okoli 120 milijono-

nov, so približno 30–300-krat občutljivejše<sup>4</sup> od čepnic ter omogočajo gledanje v mraku in pri šibki svetlobi, ko svetlobni dražljaji ne zado- stujejo za vzdraženje čepnic. Popolna izguba njihove funkcije za človeka pomeni nočno sle- poto, medtem ko je vid podnevi oziroma pri močni svetlobi neprizadet.

Med paličnicami in čepnicami obstaja mnogo strukturnih, funkcionalnih in bioke- mičnih razlik, ki so v grobem navedene v ta- beli 1 (12).

<sup>4</sup> Glavni razlog za večjo občutljivost paličnic je večja občutljivost rodopsina v primerjavi z jodopsini čepnic, poleg tega sta pri paličnicah večja tudi konvergenca fotoreceptorjev na eno ganglijsko celico ter biokemična okrepitev signala.

Tabela 1. Razlike med paličnicami in čepnicami. GC – gvanililciklaza, GCAP – aktivacijska beljakovina gvanililciklaze (angl. guanylyl cyclase activation protein).

Paličnice	Čepnice
v citosolu zunanjega segmenta se nahajajo membranski diski s fotopigmenti	celična membrana zunanjega segmenta je uvihana v lamele s fotopigmenti
velika občutljivost na svetlobo; specializirane za gledanje ob šibki svetlobi	manjša občutljivost na svetlobo; specializirane za gledanje ob močni svetlobi
več fotopigmentov; ujamejo več svetlobe	manj fotopigmentov
velika okrepitev dražljaja; lahko zaznajo tudi posamezne fotone svetlobe	manjša okrepitev dražljaja
slabša časovna ločljivost; počasen odziv na dražljaje, dolg integracijski čas dražljajev	dobra časovna ločljivost; hiter odziv na dražljaje, kratek integracijski čas dražljajev
velika občutljivost na razpršeno svetlobo	najbolj občutljive na neposredno (aksialno) svetlobo
ena oblika rodopsina transducin $G_{\alpha t}$ , $G_{\beta}$ , $v_1$ gvanililciklaza GC1 in GC2 GCAP1 in GCAP2 rodopsin kinaza GRK1	tri oblike rodopsina z različnimi spektralnimi občutljivostmi transducin $G_{\alpha t}$ , $G_{\beta}$ , $\gamma_2$ gvanililciklaza GC1 GCAP1 rodopsin kinaza GRK7
<b>Sistem paličnic</b> majhna ostrina; odsotnost v centralni fovei, velika konvergenca fotoreceptorjev v receptivnih poljih	<b>Sistem čepnic</b> velika ostrina; največja gostota v centralni fovei, majhna konvergenca fotoreceptorjev v receptivnih poljih
akromatičnost; ena vrsta fotopigmenta	trikromatski vid; tri vrste fotopigmentov, ki imajo največjo občutljivost pri različnih valovnih dolžinah

## Anatomska zgradba fotoreceptorjev in vidni pigmenti (fotopigmenti)

Tako paličnice kot čepnice so zgrajene iz štirih funkcionalnih delov. Zunanji segment z membranskimi strukturami z vidnimi pigmenti in notranji segment z endoplazemskim retikulumom, Golgijevim aparatom ter množico mitohondrijev sta povezana z ozko citoplazemsko ciliarno strukturo (lat. *cillium*). Telo fotoreceptorja vsebuje jedro, preko sinaptičnega terminalnega odrastka pa fotoreceptor komunicira z bipolarnimi in horizontalnimi celicami. Zunanji segmenti fotoreceptorjev ležijo neposredno ob pigmentnem epitelu in vsebujejo okoli 1000–2000 membranskih struktur, ki so pri paličnicah v obliki diskov in se nahajajo prosto v citosolu, pri čepnicah pa v obliki lamel, ki jih tvori navznoter uvihana zunanja celična membrana. Diskaste membranske strukture paličnic nastanejo z uvihanjem zunanje celične membrane, a se od nje

odcepijo in prosto »plavajo« v citosolu. V membranah lamel in diskov so usidrani beljakovinski deli specializiranih vidnih pigmentov (fotopigmentov). V notranjem segmentu fotoreceptorjev se nahaja jedro in večina celičnih organelov (12). Sinaptični terminalni odrastek vsebuje membranske vezikle z živčnim prenašalcem (nevrotransmitorjem) glutamatom, ki se ob primernem dražljaju zlijejo s celično membrano in vzdražijo bipolarno celico.

Podobno kot večina živčnih celic se fotoreceptorji ne delijo, se pa nenehno obnavljajo njihove membranske strukture v zunanjih segmentih. Povprečno se v paličnicah vsako uro sintetizirajo trije novi diski. Vzporedno z nenehnim nastajanjem novih diskov kontinuirano poteka tudi sinteza in integracija vidnih pigmentov vanje (13). Stari, izrabljeni membranski diski se odcepljajo na vrhu zunanjega segmenta, kjer jih s fagocitozo odstranijo celice pigmentnega epitela (8).

Vidni pigment, v paličnicah imenovan rodopsin, je sestavljen iz okoli 40.000 Da velike beljakovine opsin in majhne nebeljakovinske komponente 11-*cis*-retinal, ki je sposobna konformacijske spremembe ob vzdraženju s fotoni svetlobe. V vsakem fotoreceptorju je 1000–2000 diskastih membranskih struktur, zloženih v skladovnico. Glavna beljakovinska komponenta (več kot 90 %) diskov, rodopsin, zaseda približno 50 % njihove površine, preostale sestavine pa so predvsem fosfolipidi in holesterol. Na vsakem disku je okoli 80.000 molekul rodopsina, kar pomeni, da posamezni fotoreceptor lahko vsebuje do  $10^8$  molekul vidnih pigmentov (14, 15). Rodopsin<sup>5</sup> je transmembranska beljakovina iz 348 aminokislin, ki so zvite v sedem  $\alpha$ -heliksov, poleg tega tvorijo še tri zunajcelične in tri znotrajcelične zanke. V neaktivni obliki rodopsina je na aminokislinskem ostanku Lys 196 preko Schiffove baze kovalentno vezana kromoforna molekula 11-*cis*-retinala (oblika vitamina A). Ob absorpciji svetlobe pride do fotoizomerizacije<sup>6</sup> 11-*cis*-retinala v konformacijo *all-trans*, kar sproži fototransduksijsko kaskado (16). V obliki *all-trans* je retinal neobčutljiv za svetlobo in posledično rodopsin nefunkcionalen. Obnovi se tako, da se *all-trans*-retinal zamenja z novim 11-*cis*-retinalom, ki ga sintetizirajo celice pigmentnega epitela.

Nekateri aminokislinski ostanki na opsinu, imenovani mesta spektralnega uravnavanja (angl. *spectral tuning sites*), močno vplivajo na vrh absorpcijskega spektra opsina oziroma fotoreceptorja, ki ta opsin izraža, in tako določajo, v katerem delu vidnega spektra svetlobe bo takšen fotoreceptor najbolj vzdražen (17, 18). Prvi tip fotoreceptorjev ima vrh absorpcijskega spektra pri 420–440 nm (modra svetloba), drugi pri 534–545 nm (zelena svetloba) in tretji pri 564–580 nm (rdeča

svetloba). Ob osvetlitvi s svetlobo določene valovne dolžine se glede na različna razmerja vzdraženih čepnic posameznega tipa v možganih ustvari predstava o »barvi« svetlobe.<sup>7</sup> Na ta način je pri človeku omogočeno trikromatsko zaznavanje barv.

## FOTOTRANSDUKCIJA

Absorpcija svetlobe z vidnimi pigmenti v fotoreceptorju sproži sosledje dogodkov – fototransduksijsko kaskado, ki vodi v spremembe ionskih tokov skozi različne kanale v plazemski membrani, zaradi česar se membranski potencial fotoreceptorja zniža oziroma se fotoreceptor hiperpolarizira (19). Sprememba membranskega potenciala, imenovana tudi receptorski potencial, nastane na zunanjem segmentu fotoreceptorja in se tonično prevaja preko cilija, notranjega segmenta in telesa fotoreceptorja do sinaptičnega terminalnega odrastka kot inhibitorni stopenjski (graduירani) potencial. V terminalnem odrastku zmanjša verjetnost odprtja od napetosti odvisnih kanalov za kalcij (angl. *voltage dependent calcium channels*, VDCC), kar zmanjša znotrajcelično koncentracijo ionov  $Ca^{2+}$ . Posledica je zmanjšano sproščanje živčnega prenašalca glutamata v sinaptično špranjo med fotoreceptorjem in bipolarno celico. Spremenjena količina glutamata v sinaptični špranji povzroči graduירano spremembo membranske napetosti postsinaptične bipolarne celice,<sup>8</sup> ta pa nato s spremembo lastnega izločanja glutamata uravnava frekvenco proženja akcijskih potencialov v ganglijski celici, s katero komunicira.

Fototransduksijska kaskada (slika 2) je zaporedje treh sklopov biokemičnih reakcij. V prvem koraku svetloba aktivira molekule vidnega pigmenta rodopsina. Gre za eno naj-

<sup>5</sup> Ponekod v literaturi je beljakovinski del rodopsina imenovan opsin, da se razlikuje od oblike z vezanim kromofornim delom retinalom, ki je imenovan rodopsin.

<sup>6</sup> V tem konkretnem primeru gre za rotacijo okoli 11-*cis* dvojne vezi.

<sup>7</sup> Na primer ko s svetlobo valovne dolžine 580 nm (rumena) osvetlimo čepnice, se močno vzdražijo čepnice z opsinom, najbolj občutljivim na zeleno, in maksimalno vzdražijo čepnice z opsinom, najbolj občutljivim za rdečo svetlobo. Pri svetlobi valovne dolžine 600 nm (oranžna) se »zeleno« čepnice manj vzdražijo kot pri 580 nm, »rdeče« čepnice pa so še vedno močno vzdražene. Iz razmerja vzdraženosti posameznega tipa čepnic možgani nato določijo barvo svetlobe, ki je zadela čepnice.

<sup>8</sup> Poznamo dve vrsti bipolarnih celic, ki se razlikujejo v kanalih na postsinaptični membrani. Glutamat povzroči depolarizacijo ON-center bipolarnih celic oziroma hiperpolarizacijo OFF-center bipolarnih celic.

bolje proučenih signalnih poti, posredovanih z G-proteini. Receptorska molekula rodopsin aktivira signalno molekulo G-protein, imenovan transducin, ta pa aktivira encim cGMP-fosfodiesterazo. V drugem koraku sledi znižanje citoplazemske koncentracije cGMP, saj ga cGMP-fosfodiesteraza hidrolizira, v tretjem koraku pa se kot posledica znižane koncentracije cGMP zmanjša prevodnost s cGMP uravnanih membranskih kanalov, kar vodi v hiperpolarizacijo fotoreceptorja.

V nadaljevanju bo najprej podrobneje opisano fiziološko stanje neosvetljenega fotoreceptorja, nato pa spremembe, do katerih pride ob osvetlitvi v procesu fototransdukcije. V zadnjem delu prispevka bo govora o regeneraciji posameznih komponent, ki so sodelovale v fototransdukcijski kaskadi.

### **Tok v temi (angl. *the dark current*)**

Ključno vlogo v kaskadi dogodkov igra nukleotid cGMP. Pri paličnicah ima cGMP vlogo znotrajceličnega prenašalca, saj povezuje v citosolu prosto plavajoče diskaste membranske strukture, kjer poteče absorpcija svetlobe, z zunanjo celično membrano, kjer pride do sprememb membranske prevodnosti oziroma tokov skozi kanale. Pri čepnicah znotrajcelični prenašalec ni nujen, saj se fotopigmenti nahajajo na lamelah uvihane zunanje celične membrane, a cGMP kljub temu igra enako vlogo kot pri paličnicah. Deluje tako, da uravnava ionske tokove skozi specializirane kanale, imenovane s cGMP uravnani kationski kanali, ki se nahajajo predvsem v celični membrani zunanjega segmenta fotoreceptorja.

S cGMP uravnani kanali sodijo v družino neselektivnih kationskih kanalov, reguliranih s cikličnimi nukleotidi (angl. *cyclic-nucleotide-gated channels*, CNG) (20). Pri paličnicah so zgrajeni heterotetramerno iz treh podenot CNGA1 in ene CNGB1, pri čepnicah pa iz po dveh podenot CNGA3 in CNGB3 (21, 22). Posamezni kanal ima na citosolni strani vsaj tri vezavna mesta, na katera se kooperativno

vežejo molekule cGMP (23, 24). V temi je bazalna znotrajcelična koncentracija cGMP okoli 1–10  $\mu\text{M}$ , kar vzdržuje majhen delež (~1%) s cGMP uravnanih kanalov v prevodnem stanju (25, 26). V stanju prevodnosti skozi te kanale v citosol dotekajo predvsem kationi  $\text{Na}^+$  (~85%) in  $\text{Ca}^{2+}$  (~15%),<sup>9</sup> ki vzdržujejo fotoreceptor v rahlo depolariziranem stanju (27). Na konstantno koncentracijo cGMP se kanali ne adaptirajo (desenzitizirajo), kot je to značilno za druge kanale, uravnane z ligandi, kar je ključnega pomena za ohranjanje stalnega toka ionov v temi.

V celični membrani notranjih segmentov fotoreceptorjev se nahajajo neregulirani kanali za  $\text{K}^+$ , skozi katere kontinuirano iztekajo ioni  $\text{K}^+$  in »potiskajo« membranski potencial proti ravnotežnemu potencialu za  $\text{K}^+$ . Prav tako je na notranjih segmentih povečana gostota črpalk  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , ki skrbijo za aktivno izločanje  $\text{Na}^+$  in vračanje  $\text{K}^+$  v celico. Da se ohranijo koncentracijski gradienti posameznih ionov, so na zunanjem segmentu fotoreceptorjev prisotni izmenjevalci  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$ , imenovani tudi izmenjevalci NCKX, ki v zameno za štiri ione  $\text{Na}^+$ , prenesene iz zunajceličnega prostora v citosol, izločijo iz celice po en ion  $\text{K}^+$  in  $\text{Ca}^{2+}$  ter tako v fotoreceptorju skupaj s kanali, uravnanimi s cGMP, ustvarjajo prebitek pozitivnega naboja (28). Zanimivo je, da izmenjevalci NCKX in s cGMP uravnani kanali na zunanjih segmentih tvorijo stabilne komplekse, kar jim najverjetneje omogoča vzajemno uravnavanje koncentracije ionov  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>10</sup> Kombinacija kanalov in izmenjevalcev v nevzdraženem fotoreceptorju tipično ohranja membranski potencial pri okoli -40 mV. Krožnemu toku kationov v fotoreceptor v zunanjem segmentu ter iz fotoreceptorja v notranjem segmentu pravimo »tok v temi« (angl. *dark current*) in pri vretenčarjih znaša okoli 20–70 pA (27).

V terminalnem odrastku fotoreceptorja se nahajajo napetostno odvisni kanali za  $\text{Ca}^{2+}$ , ki so pri membranskem potencialu -40 mV pretežno odprti. Ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , ki vstopajo v fotoreceptor, so signal za izločanje (eksocitozo)

<sup>9</sup> Minimalni prispevek imajo tudi ioni  $\text{Mg}^{2+}$ .

<sup>10</sup> Med osvetlitvijo fotoreceptorja se dotok ionov  $\text{Ca}^{2+}$  skozi s cGMP uravnane kanale zmanjša, medtem ko ostane izločanje  $\text{Ca}^{2+}$  skozi kanale CNKX nespremenjeno. Posledica je znižanje citosolne koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ .

živčnega prenašalca glutamata, kar kontinuirano poteka ves čas neosvetljenosti fotoreceptorja.

Koncentracijo cGMP v fotoreceptorju uravnava dva encima. Za njegovo sintezo iz GTP skrbi encim gvanililciklaza, za razgradnjo v 5'-GMP pa je odgovorna cGMP-fosfodiesteraza, beljakovina, ki je periferno vezana na membrano diskov ali lamel. Koncentracija cGMP je odvisna od svetlobe in znotrajcelične koncentracije ionov  $Ca^{2+}$  (29). V temi je aktivnost cGMP-fosfodiesteraze nizka, zato je koncentracija cGMP relativno visoka. Aktivacija molekul vidnih pigmentov vodi v aktivacijo cGMP-fosfodiesteraze, ki cepi molekule cGMP in zniža njegovo citosolno koncentracijo.

### Prvi korak

Ob osvetlitvi fotoreceptorja<sup>11</sup> pride na 11-*cis*-retinalu do absorpcije fotonov, kar v okoli 200 femtosekundah spremeni njegovo konformacijo iz oblike *cis* v *trans* (15). Ta reakcija je v celotni fototransdukcijski kaskadi edina odvisna od svetlobe. Spremenjena kromoforna molekula all-*trans*-retinal sterično ne ustreza svojemu vezavnemu mestu na opsinu, kar v nekaj milisekundah po vmesnih korakih preko batorodopsina, lumirodopsina in metarodopsina I vodi v nastanek nestabilnega metarodopsina II (30). Slednji v nekaj sekundah razpade na opsin in all-*trans*-retinal. Molekula all-*trans*-retinala se transportira v celice pigmentnega epitela, kjer se v nekaj minutah preko all-*trans*-retinola (vitamin A)<sup>12</sup> pretvori v 11-*cis*-retinal, ta pa se transportira nazaj v fotoreceptor in združi z opsinom v novo molekulo vidnega pigmenta.

### Drugi korak

Preden metarodopsin II razpade, lateralno difundira v membrani in je v ~100 ms sposoben aktivirati do več kot 200 membransko vezanih molekul trimernega G-proteina, imenovanega transducin (31, 32). Gre za prvi korak okrepitev signala v fototransdukcijski kaskadi.

Transducin je v dveh različnih izoformnih oblikah:  $G\alpha_1G\beta_1v_1$  v paličnicah in  $G\alpha_2G\beta_3\gamma_8$  v čepnicah (33, 34). Razmerje med molekulami rodopsina in transducina je v grobem 10:1. Za transducin v paličnicah je značilno, da se ob močni osvetlitvi podenoti transducina  $G\alpha_2$  in  $G\beta_1v_1$  iz zunanjih segmentov fotoreceptorjev prerazporedita v notranje segmente, kar je najverjetneje povezano z adaptacijo fotoreceptorjev na svetlobo ali z zaščito paličnic pred močno svetlobo (35, 36). Za razliko od paličnic pride v čepnicah do prerazporeditve  $G\alpha_2$  le ob izjemno močni svetlobi.

Aktivacija transducina poteče tako, da se na  $\alpha$ -podenoti vezana molekula GDP zamenja za molekulo GTP (37, 38). Aktivirani transducin se razcepi na dva dela, na aktivirano podenoto  $\alpha$ - ( $G\alpha$ -GTP) in podenoto  $\beta\gamma$ -transducin ( $G\beta\gamma$ ), ki se odcepita od metarodopsina II. Slednji je sedaj prost in sposoben aktivirati nove molekule transducina.  $G\alpha$ -GTP v membrani lateralno difundira do membransko vezane cGMP-fosfodiesteraze (PDE).

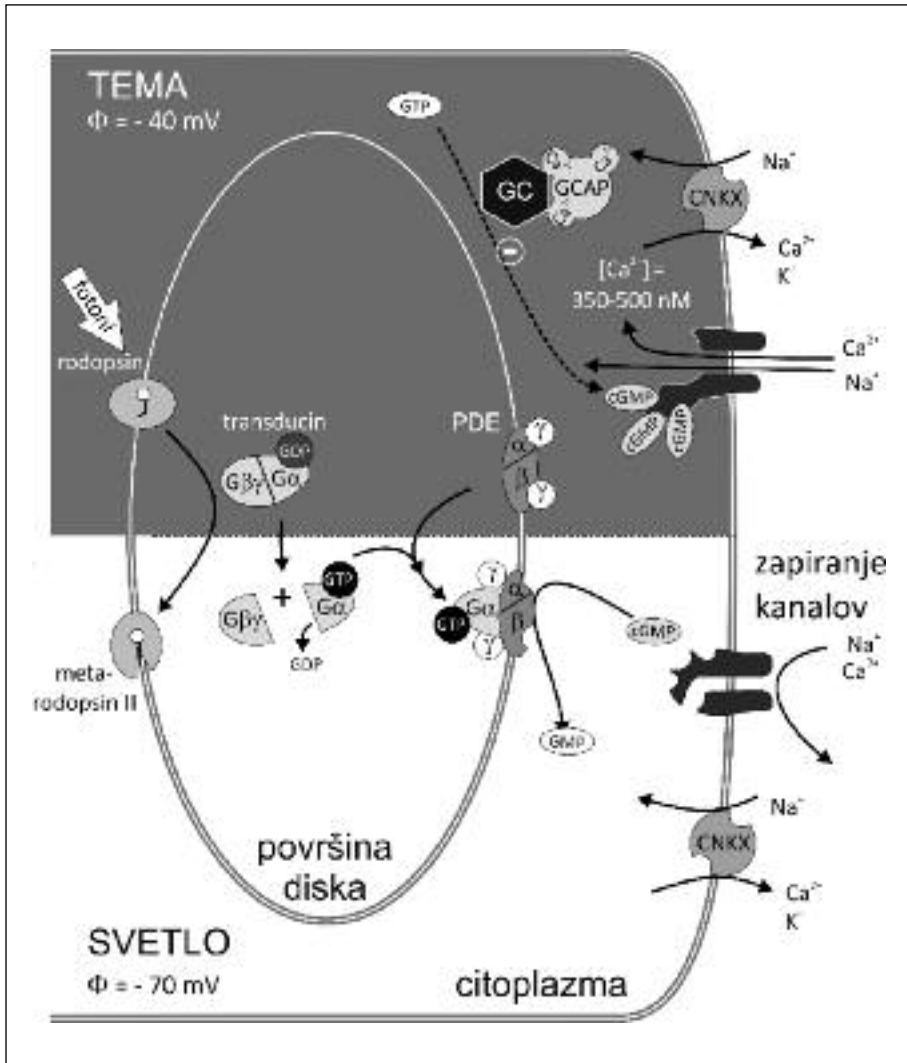
PDE je tetramer iz po ene podenote  $\alpha$  in  $\beta$  ter dveh enakih podenot  $\gamma$  in je na membranah diskov z rodopsinom v razmerju 100:1 (39). V temi podenoti  $\gamma$  delujeta inhibitorno, ob osvetlitvi pa ju sterično izpodrineta dve molekuli  $G\alpha$ -GTP ter tako omogočita, da postane PDE $\alpha\beta$  katalitično aktivna in hidrolizira cGMP (40). Poleg inhibitorne vloge je podenota PDE $\gamma$  nujna za integriteto katalitične podenote PDE $\alpha\beta$ , saj v primeru njene odsotnosti fotoreceptorji propadejo zaradi nenormalno visoke citosolne koncentracije cGMP (41). Poleg inhibitorne vloge ima PDE $\gamma$  vlogo tudi v procesu končanja vzdraženja fotoreceptorjev, kjer pospeši avtokatalitično delovanje transducina, kot bo podrobneje opisano v nadaljevanju.

Aktivirana PDE je sposobna hidrolize več kot 1000 molekul cGMP na sekundo. Gre za drugi korak v okrepitvi odgovora fotoreceptorja na svetlobo. Skupno je tako absorpcija posameznega fotona svetlobe zaradi pomnoževanja biokemičnih reakcij na ravni meta-

<sup>11</sup> Fototransdukcijska kaskada je v paličnicah in čepnicah enaka.

<sup>12</sup> All-*trans*-retinol (vitamin A) je ključna sestavina vidnih čutilnih celic. Ljudje ga ne moremo sintetizirati sami, zato ga moramo v telo vnesti s hrano. Pomanjkanje vitamina A na začetku vodi v nočno slepoto, saj so prve prizadete paličnice, katerih občutljivost se zmanjša, kasneje pride do degradacije zunanjih segmentov fotoreceptorjev in končno do popolne slepote.





Slika 2. Fototransdukcijska kaskada. Retinal v rodopsinu absorbira fotone in povzroči nastanek metarodopsina II. Ta aktivira membransko vezano signalno beljakovino transducin, ki spodbudi encimsko aktivnost membransko vezane fosfodiesteraze (PDE), ki hidrolizira ciklični gvanozin monofosfat. Zaradi znižane koncentracije cGMP v fotoreceptorju se zmanjša verjetnost odprtja s cGMP uravnanih kationskih kanalov (CNKX), kar vodi v zmanjšan dotok kationov in hiperpolarizacijo zunanje celične membrane. GC – gvanilciklaza, GCAP – aktivacijska beljakovina gvanilciklaze (angl. guanylyl cyclase activation protein), PDE – fosfodiesteraza, CNKX – s cGMP uravnani kationski kanali.

rodopsina II in PDE okrepljena tudi za red velikosti  $10^5$ , kar zagotavlja paličnicam veliko občutljivost (42–44).

### Tretji korak

Leta 1985 so Fesenko in sodelavci ter Yau in Nakatani odkrili obstoj kationskih kanalov,

odvisnih od cGMP, kar je potrdilo domnevo, da je sekundarna sporočevalna molekula, ki povezuje aktivirani rodopsin na membranih diskov s spremembo prevodnosti zunanje celične membrane, ciklični gvanozin monofosfat (cGMP) in ne ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , kot so sprva domnevali (24, 45, 46).

Ob osvetlitvi fotoreceptorja pride do hidrolize cGMP in padca njegove citosolne koncentracije, kar povzroči disociacijo molekule cGMP z vezavnih mest na s cGMP uravnanih kanalih, to pa ima za posledico zmanjšanje njihove prevodnosti za katione v manj kot milisekundi (47). Dotok pozitivnega naboja v fotoreceptor se tako zmanjša. Sočasno skozi izmenjevalce in neselektivne kanale neprizadeto iztekajo ioni  $K^+$ , zato se količina kationov na citosolni strani membrane zmanjšuje, kar vodi v znižanje membranskega potenciala na okoli  $-70$  mV oziroma v hiperpolarizacijo membrane fotoreceptorja. To znižanje membranskega potenciala zapre napetostno odvisne kanale za  $Ca^{2+}$  na terminalnem odrastku in zmanjša eksocitoto glutamata iz fotoreceptorja v sinapso z bipolarno celico.

### Končanje fototransdukcijske kaskade

Vzdraženje fotoreceptorja ni stalno. Po vsaki absorpciji svetlobe in sproženi fototransdukcijski kaskadi je nujno, da se fotoreceptor čim hitreje vrne v svoje začetno stanje, da lahko ustrezno odgovori na naslednje dražljaje. Da bi bilo to mogoče, se morajo inaktivirati vse aktivirane komponente kaskade (metarodopsin II, transducin in fosfodiesteraza) poleg tega mora poteči regeneracija rodopsina in se vzpostaviti bazalna koncentracija cGMP.

Za končanje opisanih biokemijskih reakcij skrbita dva mehanizma. Prvi je fosforilacija metarodopsina II s specifično proteinsko kinazo, imenovano rodopsin kinaza, in vezavo fosforiliranega metarodopsina II z regulatornim proteinom arestinom, kar vodi v hitro inaktivacijo prvega. Drugi mehanizem vključuje inaktivacijo transducina, ki poteče zaradi njegove lastne GTPazne<sup>13</sup> aktivnosti in kompleksa regulatornih beljakovin, imenovane ga GAP.

Ker v obeh mehanizmih, ki sodelujeta v končanju fototransdukcijske kaskade, sodelujejo povsem različne komponente z različ-

nimi hitrostmi biokemijskih reakcij, je za končni učinek omejujoč počasnejši mehanizem. V paličnicah je hitrost končanja fototransdukcijske kaskade omejena s hitrostjo inaktivacije kompleksa podenote transducina  $G\alpha$ -GTP in aktivirane fosfodiesteraze, ki je odvisna od koncentracije kompleksa GAP,<sup>14</sup> in je približno 2,5-krat počasnejša kot inaktivacija metarodopsina II z rodopsin kinazo (48).

### Inaktivacija metarodopsina II in regeneracija rodopsina

Aktivirana oblika rodopsina metarodopsin II se inaktivira v dveh korakih. Najprej poteče njegova fosforilacija z rodopsin kinazo (GRK1) na več aminokislinskih ostankih serina in treonina,<sup>15</sup> pri čemer je jakost inaktivacije sorazmerna s številom fosforiliranih mest (49).

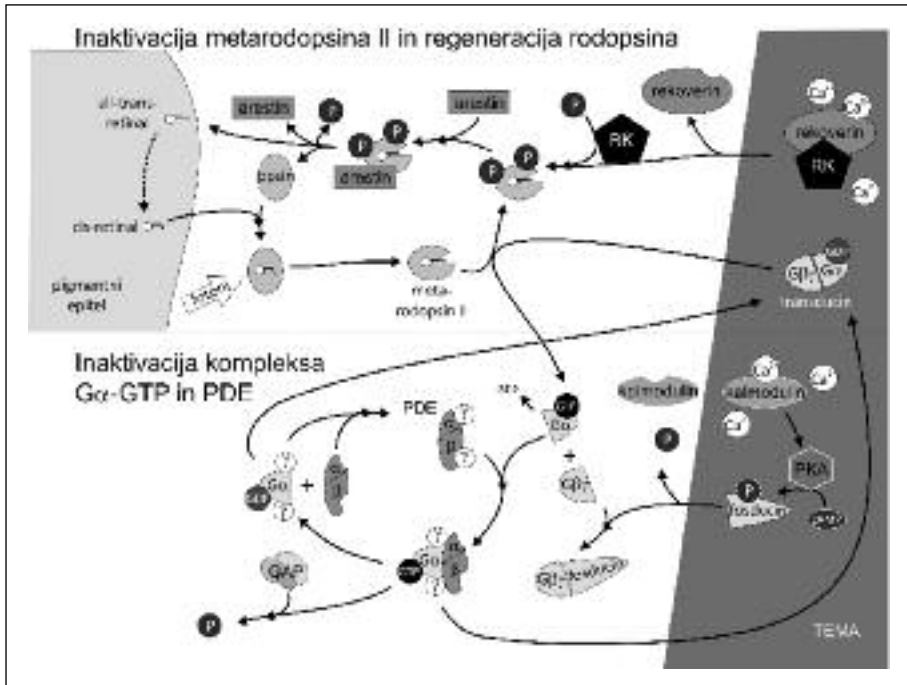
Fosforilacijo metarodopsina II z rodopsin kinazo uravnava molekula rekovertina (angl. *recoverin*), ki sodi med vezavne beljakovine za ione  $Ca^{2+}$  (50). V temi, ko je koncentracija prostih ionov  $Ca^{2+}$  v citosolu fotoreceptorjev visoka in so vezavna mesta za  $Ca^{2+}$  na rekovertinu zasedena, se kompleksi rekovertin- $Ca^{2+}$  vežejo na rodopsin kinazo in inhibirajo njeno fosforilacijo metarodopsina II. Ob znižanju koncentracije  $Ca^{2+}$  po osvetlitvi, ioni  $Ca^{2+}$  disociirajo z rekovertina. Afiniteta rekovertina do rodopsin kinaze se zmanjša, zato kompleksi rekovertina z rodopsin kinazo razpadejo. Prosta rodopsin kinaza je tako sposobna fosforilacije metarodopsina II (51, 52) (slika 3).

Ker fosforilacija vsakega fosforilacijskega mesta na metarodopsinu II predstavlja samostojen dogodek pri njegovi inaktivaciji, je na tak način dobro uravnavana jakost njegove aktivnosti in življenjska doba, ki je približno 80 ms (48). Inaktivacija metarodopsina II je pri čepnicah hitrejša kot pri paličnicah, saj vsebujejo drugo obliko rodopsin kinaze GRK7 s precej višjo specifično aktivnostjo od GRK1 (53). To jim omogoča hitrejše odzivanje na svetlobne dražljaje in povratek v osnov-

<sup>13</sup> GTPaze so encimi, ki hidrolizirajo GTP na GDP in anorganski fosfat.

<sup>14</sup> V čepnicah je koncentracija kompleksa GAP višja kot v paličnicah, zato ta korak ni nujno omejujoč, vendar področje še ni zadovoljivo raziskano.

<sup>15</sup> Pri mišjem rodopsinu je teh mest šest, pri človeškem sedem, pri človeških čepnicah, najbolj občutljivih na rdečo svetlobo, pa 13.



Slika 3. Procesi regeneracije komponent fototransdukcijske kaskade. Metarodopsin II se inaktivira v dveh korakih: s fosforilacijo z rodopsin kinazo in vezavo arrestina. Proces uravnava molekula rekovertina v odvisnosti od koncentracije ionov  $Ca^{2+}$ . Inaktivacija podenote transducina  $G\alpha$ -GTP poteče avtokatalitično ob pomoči kompleksa GAP. Za podrobnosti glej besedilo. PKA – fosfokinaza A, GAP – kompleks beljakovin R9AP,  $G\beta_5$ -L in RGS9-1, P – anorganski fosfat, RK – rodopsin kinaza.

no stanje, hkrati pa je to najverjetneje mehanizem, ki zmanjšuje njihovo občutljivost na svetlobo.

V drugem koraku inaktivacije metarodopsina II se na fosforilirani metarodopsin II veže molekula arrestina (Arr1),<sup>16</sup> kar povsem ustavi njegovo aktivnost in pospeši njegov razpad (54).

### Inaktivacija kompleksapodenote transducina $G\alpha$ -GTP in aktivirane fosfodiesteraze (PDE)

Inaktivacija podenote transducina  $G\alpha$ -GTP poteče avtokatalitično, ko pride do hidrolize nanj vezane molekule GTP do GDP zaradi lastne počasne GTPazne encimske aktivnosti. To encimsko aktivnost močno pospeši vezava kompleksa GAP, ki združuje membransko

vezano beljakovino R9AP, dolgo obliko podenote  $G\beta_5$ -L signalne G-beljakovine in regulatorno beljakovino signalne G-beljakovine RGS9-1. Po hidrolizi GTP se kompleks  $G\alpha$ -GDP odcepi od podenote  $\gamma$  fosfodiesteraze, ki nato inhibira katalitični podenoti  $\alpha\beta$ PDE (55).

### Vzpostavitev bazalne koncentracije cGMP

Za ohranjanje konstantne bazalne koncentracije cGMP v fotoreceptorju je nujno usklajeno delovanje dveh encimov. Po končanem odzivu na osvetlitev, med katerim je bila povečana aktivnost fosfodiesteraze, ki je znižala citosolno koncentracijo cGMP, je potrebna sinteza novih molekul cGMP, za kar skrbi encim gvanililciklaza (GC). V paličnicah sta prisotni dve obliki encima: GC1 (GC-E) in GC2

<sup>16</sup> Imenovan tudi 48 K-protein ali S-antigen.

(GC-F), medtem ko je v čepnicah prisotna le oblika GC1 (56). Aktivnost gvanililciklaze je odvisna od koncentracije ionov  $Ca^{2+}$ , ki se vežejo na regulatorne beljakovine, ki aktivirajo gvanililciklazo (angl. *guanylate-cyclase-activating proteins*, GCAPs) in preko negativne povratne zanke uravnavajo njeno delovanje. Beljakovine GCAP sodijo v družino vezavnih beljakovin za  $Ca^{2+}$ , podobnih kalmodulinu, pri čemer sta v paličnicah prisotni obliki GCAP1 in GCAP2, v čepnicah pa skoraj izključno GCAP1 (57). V temi, ko je koncentracija  $Ca^{2+}$  v fotoreceptorju visoka, so ioni  $Ca^{2+}$  vezani na svoja vezavna mesta na beljakovinah GCAP, kar omogoča inhibicijo gvanililciklaze (slika 2). Ko se po osvetlitvi fotoreceptorja koncentracija  $Ca^{2+}$  zniža, ioni  $Ca^{2+}$  disociirajo z beljakovin GCAP, kar omogoči, da GCAP že v  $^{TM}40$  ms aktivira gvanililciklazo (58). Ta povratna zanka je precej hitrejša od fosforilacije metarodopsina II in ima velik pomen pri hitrem vračanju koncentracije cGMP na bazalno raven ter posledično pri vzpostavljanju »toka v temi«.

## VLOGA ZNOTRAJCELIČNE KONCENTRACIJE IONOV $Ca^{2+}$ IN ADAPTACIJA NA MOČNO SVETLOBO

Kadar stopimo v močno osvetljen prostor ali na sončno svetlobo, imamo sprva občutek, da je ta svetloba zaslepljujoča, a že po nekaj sekundah oziroma minutah omenjeni občutek izzveni in oči se privadijo na močnejšo osvetljenost. Obratno se dogaja, kadar vstopimo v zatemnjen prostor, saj sprva le s težavo razločimo predmete v prostoru in šele po krajšem času adaptacije lahko vidimo podrobnosti. Adaptacija na svetlo in temno vključuje več mehanizmov v očesu in mrežnici (na primer oženje in širjenje zenice, da se zmanjša oziroma poveča količina svetlobe, ki pade na mrežnico), najpomembnejši spremembi pa se zgodita v čepnicah.

Prva sprememba med prilagajanjem na dalj časa trajajočo osvetlitev čepnic je postopno zviševanje membranskega potenciala iz hiperpolariziranega stanja proti mirovnemu membranskemu potencialu, ki je pri okoli  $-40$  mV. Druga sprememba je zmanjšanje občutljivosti fotoreceptorjev. V nadaljevanju

bodo natančneje opisani dogodki med adaptacijo na močno osvetlitev, medtem ko se v času adaptacije na temo odvijajo obratni procesi.

V temi ioni  $Ca^{2+}$  nenehno dotekajo v zunanji segment fotoreceptorja skozi s cGMP uravnavane kanale, zato je njihova koncentracija v citosolu relativno visoka, a ostaja konstantna pri nekaj  $\mu$ M zaradi izmenjevalcev CNKX. Ioni  $Ca^{2+}$  se v citoplazmi vežejo na vezavno beljakovino za  $Ca^{2+}$ , imenovano kalmodulin, ki spodbudi fosforilacijo beljakovine fosducin s pomočjo se cAMP in fosfokinaze A (PKA). Fosducin se v nefosforilirani obliki, ki nastane po osvetlitvi fotoreceptorja zaradi znižane koncentracije  $Ca^{2+}$ , poveže s podenoto transducina  $G\beta\gamma$  in tako omogoči njeno povezavo s podenoto  $G\alpha$ -GTP. Na ta način ostane podenota  $G\alpha$ -GTP prosta in sposobna sodelovanja v fototransdukcijski kaskadi.

Osvetlitev fotoreceptorja povzroči zaprtje kationskih s cGMP uravnanih kanalov. Posledično ioni  $Ca^{2+}$  prenehajo dotekati v fotoreceptor in pride do hiperpolarizacije čepnice do ravnotežnega potenciala za  $K^+$  pri okoli  $-70$  mV. V takšnem stanju čepnica ni sposobna odgovoriti na nov svetlobni dražljaj. Sočasno ostajajo izmenjevalci CNKX aktivni, zaradi česar se koncentracija ionov  $Ca^{2+}$  postopno znižuje (26, 29, 60). Ker ioni  $Ca^{2+}$  zavirajo aktivnost encima gvanililciklaze, ki je odgovorna za sintezo cGMP, postane ob zmanjšani koncentraciji ionov  $Ca^{2+}$  ta encim aktivnejši in omogoči sintezo novih molekul cGMP (58). Te se vežejo na kanale, odvisne od cGMP, in jih odprejo, v fotoreceptor začno ponovno dotekati kationi  $Na^+$  in  $Ca^{2+}$ , zato se membrana postopno depolarizira proti mirovni vrednosti.

Druga sprememba med adaptacijo na svetlobo je zmanjšanje občutljivosti (desenzitizacija) fotoreceptorjev, do katere pride zaradi učinka znižane koncentracije ionov  $Ca^{2+}$  na vidne pigmente in s cGMP uravnavane kanale. Znižanje koncentracije ionov  $Ca^{2+}$  povzroči hitrejšo inaktivacijo vidnih pigmentov, saj preko vezave na S-modulin inhibira delovanje rodopsin kinaze in s tem fosforilacijo metarodopsina II. Kadar je koncentracija  $Ca^{2+}$  znižana, je rodopsin kinaza aktivnejša in razgradnja metarodopsina II hitrejša (61). Poleg tega znižanje koncentracije ionov  $Ca^{2+}$  zmanj-

ša občutljivost s cGMP uravnanih kanalov na spremembe v koncentraciji cGMP. Zaradi teh učinkov  $\text{Ca}^{2+}$  je za enako močan odziv fotoreceptorja (zapiranje enakega števila kanalov, odvisnih od cGMP) potreben močnejši svetlobni dražljaj. Med dolgotrajno trajajočo osvetlitvijo ozadja najmanjše povečanje osvetlitve, ki še lahko izzove zaznavno spremembo membranskega potenciala, narašča sorazmerno z jakostjo osvetlitve ozadja. Proces adaptacije fotoreceptorjev na močno in šibko svetlobo se med paličnicami in čepnicami razlikujejo, podrobnosti pa še niso povsem raziskane (59).

## ZAKLJUČEK

Proces fototransdukcije in ojačanje sprejetih svetlobnih dražljajev, ki poteka v fotoreceptorjih, je prvi korak k obdelavi vidnih informacij na mrežnici. V nadaljevanju poteka integriranje in procesiranje informacij iz večjega števila fotoreceptorjev s pomočjo bipolarnih, horizontalnih in amakrinih celic. Takšne delno obdelane informacije nato ganglijske celice v obliki akcijskih potencialov po optičnem živcu prenesejo do možganov.

## LITERATURA

1. Tscapopoulos M., Poitry-Yamate CL, MacLeish PR, et al. Trafficking of molecules and metabolic signals in the retina. *Progr Retin Eye Res.* 1998; 17 (3): 429-42.
2. Strauss O. The Retinal Pigment Epithelium in Visual Function. *Physiol Rev.* 2005; 85 (3): 845-81.
3. Schraermeyer U, Heimann K. Current Understanding on the Role of Retinal Pigment Epithelium and its Pigmentation. *Pigment Cell Res.* 1999; 12 (4): 219-36.
4. Schraermeyer U, Peters S, Thuman G, et al. Melanin Granules of Retinal Pigment Epithelium are Connected with the Lysosomal Degradation Pathway. *Expl Eye Res.* 1999. 68 (2): 237-45.
5. Streilein JW, Ma N, Wenkel H, et al. Immunobiology and privilege of neuronal retina and pigment epithelium transplants. *Vision Res.* 2002; 42 (4): 487-95.
6. Ishida K, Panjwani N, Cao Z, et al. Participation of pigment epithelium in ocular immune privilege. 3. Epithelia cultured from iris, ciliary body, and retina suppress T-cell activation by partially non-overlapping mechanisms. *Ocul Immunol Inflamm.* 2003; 11 (2): 91-105.
7. Baehr W, Wu SM, Bird AC, et al. The retinoid cycle and retina disease. *Vision Res.* 2003. 43 (28): 2957-8.
8. Kevany BM, Palczewski K. Phagocytosis of Retinal Rod and Cone Photoreceptors. *Physiology (Bethesda).* 2010. 25 (1): 8-15.
9. Mustafi D, Kevany BM, Genoud C, et al. Photoreceptor phagocytosis is mediated by phosphoinositide signaling. *FASEB J.* V tisku 2013.
10. Mescher Anthony L. Junqueira's basic histology. Text and atlas. 12th ed. International edition. McGraw Hill; 2010.
11. Curcio CA, Allen KA, Sloan KR, et al. Distribution and morphology of human cone photoreceptors stained with anti-blue opsin. *J Comp Neurol.* 1991; 312 (4): 610-24.
12. Mustafi D, Engel AH, Palczewski K. Structure of cone photoreceptors. *Progr Retin Eye Res.* 2009; 28 (4): 289-302.
13. Zhang H, Fan J, Li S, et al. Trafficking of Membrane-Associated Proteins to Cone Photoreceptor Outer Segments Requires the Chromophore 11-cis-Retinal. *J Neurosci.* 2008; 28 (15): 4008-14.
14. Palczewski K. G Protein-Coupled Receptor Rhodopsin. *Annu Rev Biochem.* 2006; 75: 743-67.
15. Ridge KD, Palczewski K. Visual Rhodopsin Sees the Light: Structure and Mechanism of G Protein Signaling. *J Biol Chem.* 2007. 282 (13): 9297-301.
16. Peteanu LA, Schoenlein RW, Wang Q, et al. The first step in vision occurs in femtoseconds: complete blue and red spectral studies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90 (24): 11762-6.
17. Deeb SS. The molecular basis of variation in human color vision. *Clin Genet.* 2005; 67 (5): 369-77.
18. Yokoyama S. Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Progr Retin Eye Res.* 2000; 19 (4): 385-419.
19. Kefalov VJ. Rod and Cone Visual Pigments and Phototransduction through Pharmacological, Genetic, and Physiological Approaches. *J Biol Chem.* 2012. 287 (3): 1635-41.
20. Kaupp UB, Seifert R. Cyclic Nucleotide-Gated Ion Channels. *Physiol Rev.* 2002; 82 (3): 769-824.

21. Zheng J, Trudeau MC, Zagotta WN. Rod Cyclic Nucleotide-Gated Channels Have a Stoichiometry of Three CNGA1 Subunits and One CNGB1 Subunit. *Neuron*. 2002; 36 (5): 891–6.
22. Peng C, Rich ED, Varnum MD. Subunit Configuration of Heteromeric Cone Cyclic Nucleotide-Gated Channels. *Neuron*. 2004; 42 (3): 401–10.
23. Haynes LW, Kay AR, Yau KW. Single cyclic GMP-activated channel activity in excised patches of rod outer segment membrane. *Nature*. 1986; 321 (6065): 66–70.
24. Fesenko EE, Kolesnikov S, Lyubarsky A. Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature*. 1985; 313 (6000): 310–3.
25. Cote RH, Brunnock MA. Intracellular cGMP concentration in rod photoreceptors is regulated by binding to high and moderate affinity cGMP binding sites. *J Biol Chem*. 1993. 268 (23): 17190–8.
26. Yau KW. Phototransduction mechanism in retinal rods and cones. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994; 35 (1): 9–32.
27. Hagins WA, Penn RD, Yoshikami S. Dark Current and Photocurrent in Retinal Rods. *Biophys J*. 1970; 10 (5): 380–412.
28. Prinsen CF, Cooper CB, Szerencsei RT, et al. The retinal rod and cone  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}\text{-K}^+$  exchangers. *Adv Exp Med Biol*. 2002; 514: 237–51.
29. Coccia VJ, Cote RH. Regulation of intracellular cyclic GMP concentration by light and calcium in electropermeabilized rod photoreceptors. *J Gen Physiol*. 1994; 103 (1): 67–86.
30. Okada T, Palczewski K. Crystal structure of rhodopsin: implications for vision and beyond. *Curr Opin Struct Biol*. 2001. 11 (4): 420–6.
31. Leskov IB, Klenchin VA, Handy JW, et al. The Gain of Rod Phototransduction: Reconciliation of Biochemical and Electrophysiological Measurements. *Neuron*. 2000; 27 (3): 525–37.
32. Heck M, Hofmann KP. Maximal Rate and Nucleotide Dependence of Rhodopsin-catalyzed Transducin Activation: initial rate analysis based on a double displacement mechanism. *J Biol Chem*. 2001. 276 (13): 10000–9.
33. Peng YW, Robishaw JD, Levine MA, et al. Retinal rods and cones have distinct G protein beta and gamma subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992. 89 (22): 10882–6.
34. Lee RH, Lieberman BS, Yamane HK, et al. A third form of the G protein beta subunit. 1. Immunochemical identification and localization to cone photoreceptors. *J Biol Chem*. 1992. 267 (34): 24776–81.
35. Sokolov M, Lyubarsky AL, Strissel KJ, et al. Massive Light-Driven Translocation of Transducin between the Two Major Compartments of Rod Cells: A Novel Mechanism of Light Adaptation. *Neuron*. 2002. 34 (1): 95–106.
36. Elias RV, Sezate SS, Cao W, et al. Temporal kinetics of the light/dark translocation and compartmentation of arrestin and  $\alpha$ -transducin in mouse photoreceptor cells. *Mol Vis*. 2004; 10: 672–81.
37. Kwok-Keung Fung B, Stryer L. Photolyzed rhodopsin catalyzes the exchange of GTP for bound GDP in retinal rod outer segments. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980; 77 (5): 2500–4.
38. Shichida Y, Morizumi T. Mechanism of G-protein Activation by Rhodopsin. *Photochem Photobiol*. 2007; 83 (1): 70–5.
39. Baehr W, Devlin MJ, Applebury ML. Isolation and characterization of cGMP phosphodiesterase from bovine rod outer segments. *J Biol Chem*. 1979; 254 (22): 11669–77.
40. Deterre P, Bigay J, Forquet F, et al. cGMP phosphodiesterase of retinal rods is regulated by two inhibitory subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85 (8): 2424–8.
41. Tsang SH, Gouras P, Yamashita CK, et al. Retinal degeneration in mice lacking the gamma subunit of the rod cGMP phosphodiesterase. *Science*. 1996; 272 (5264): 1026–9.
42. Pugh EN Jr, Lamb T. Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction. *Biochim Biophys Acta*. 1993; 1141 (2–3): 111–49.
43. Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh EN. G proteins and phototransduction. *Annu Rev Physiol*. 2002. 64 (1): 153–87.
44. Lamb TD. Gain and kinetics of activation in the G-protein cascade of phototransduction. *Proc Natl Acad Sci*. 1996. 93 (2): 566–70.
45. Yau KW, Nakatani K. Light-suppressible, cyclic GMP-sensitive conductance in the plasma membrane of a truncated rod outer segment. *Nature*. 1985; 317 (6034): 252–5.
46. Luo DG, Xue T, Yau KW. How vision begins: An odyssey. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008. 105 (29): 9855–62.
47. Karpen JW, Zimmerman AL, Stryer L, et al. Gating kinetics of the cyclic-GMP-activated channel of retinal rods: flash photolysis and voltage-jump studies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85 (4): 1287–91.
48. Krispel CM, Chen D, Melling N, et al. RGS Expression Rate-Limits Recovery of Rod Photoresponses. *Neuron*. 2006. 51 (4): 409–16.
49. Doan T, Mendez A, Detwiler PB, et al. Multiple Phosphorylation Sites Confer Reproducibility of the Rod's Single-Photon Responses. *Science*. 2006; 313 (5786): 530–3.
50. Chen CK, Inglese J, Lefkowitz RJ, et al. Ca-dependent Interaction of Recoverin with Rhodopsin Kinase. *J Biol Chem*. 1995. 270 (30): 18060–6.
51. Klenchin VA, Calvert PD, Bownds MD. Inhibition of Rhodopsin Kinase by Recoverin: further evidence for a negative feedback system in phototransduction. *J Biol Chem*. 1995. 270 (27): 16147–52.

52. Makino CL, Dodd RL, Chen J, et al. Recoverin Regulates Light-dependent Phosphodiesterase Activity in Retinal Rods. *J Gen Physiol.* 2004. 123 (6): 729–41.
53. Tachibanaki S, Shimauchi-Matsukawa Y, Arinobu D, et al. Molecular Mechanisms Characterizing Cone Photoresponses. *Photochem Photobiol.* 2007. 83 (1): 19–26.
54. Burns ME, Mendez A, Chen CK, et al. Deactivation of Phosphorylated and Nonphosphorylated Rhodopsin by Arrestin Splice Variants. *J Neurosci.* 2006. 26 (3): 1036–44.
55. Makino CL, Wen XH, Lem J. Piecing together the timetable for visual transduction with transgenic animals. *Curr Opin Neurobiol.* 2003. 13 (4): 404–12.
56. Baehr W, Karan S, Maeda T, et al. The Function of Guanylate Cyclase 1 and Guanylate Cyclase 2 in Rod and Cone Photoreceptors. *J Biol Chem.* 2007. 282 (12): 8837–47.
57. Howes K, Bronson JD, Dang YL, et al., Gene array and expression of mouse retina guanylate cyclase activating proteins 1 and 2. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998. 39 (6): 867–75.
58. Burns ME, Mendez A, Chen J, et al. Dynamics of Cyclic GMP Synthesis in Retinal Rods. *Neuron.* 2002. 36 (1): 81–91.
59. Fain GL, Matthews HR, Cornwall MC, et al. Adaptation in Vertebrate Photoreceptors. *Physiol Rev.* 2001. 81 (1): 117–51.
60. Burns ME, Baylor DA. Activation, deactivation, and adaptation in vertebrate photoreceptor cells. *Ann Rev Neurosci.* 2001. 24 (1): 779–805.
61. Kawamura S. Rhodopsin phosphorylation as a mechanism of cyclic GMP phosphodiesterase regulation by S-modulin. *Nature.* 1993. 362 (6423): 855–7.

## PRIPOROČENA LITERATURA

1. Tessier-Lavigne M. Visual processing by the retina. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, eds. *Principles of Neural Science.* 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2000. p. 509–23.
2. Wyszecki G, Stiles WS. *Colour Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae.* 2nd ed. New York: Wiley Series in Pure and Applied Optics. 1982.
3. Pugh EN, Lamb TD. Phototransduction in vertebrate rods and cones: molecular mechanisms of amplification, recovery and light adaptation. In: Stavenga DG, DeGrip WJ, Pugh EN Jr, eds. *Handbook of Biological Physics.* Amsterdam: Elsevier/North-Holland; 2000.
4. Despopoulos A, Silbernagl S. *Color Atlas of Physiology.* 5th ed. New York: Thieme; 2003. p. 344–61
5. Kolb H, Nelson R, Fernandez E, Jones B. Webvision. *The Organization of the Retina and Visual System.* [internet] [citirano 19. 9. 2013] dosegljivo na <http://webvision.med.utah.edu/book/>

Prispelo 20. 9. 2013