

ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПАРАДОКС ЗРЕНИЯ

М. А. Островский

Институт биохимической физики РАН им. Н. М. Эмануэля, Москва

Введение

Фотобиологический парадокс зрения состоит в том, что свет, являясь носителем зрительной информации, одновременно выступает как фактор риска. Сочетание света и кислорода – необходимое условие для осуществления нормального фоторецепторного процесса, но в то же самое время это классические условия, необходимые и достаточные для возникновения и развития в структурах глаза деструктивных фотохимических реакций по механизму свободно-радикального окисления. Фотохимическая «хрупкость» фоторецепторных клеток сетчатки и клеток пигментного эпителия к фотоповреждению связана с присутствием в них эффективно поглощающих свет фотосенсибилизаторов, достаточно высоким парциальным давлением кислорода и, наконец, наличием легко окисляющихся субстратов, в первую очередь полиненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов. Именно поэтому в ходе эволюции органов зрения позвоночных и беспозвоночных сформировалась достаточно надежная система защиты от опасности фотоповреждения (Островский, Федорович, 1987). Эта система включает постоянное обновление светочувствительных наружных сегментов зрительных клеток, набор антиоксидантов и оптические среды глаза как светофильтры, где ключевую роль играет хрусталик. Для обеспечения дневного зрения в условиях слишком интенсивного и/или неблагоприятного по спектральному составу света такая комплексная система защиты жизненно необходима.

Таким образом, правомерно выделить две функциональные системы глаза: собственно фоторецепции и защиты от опасности фотоповреждения. Рассматривая проблему фотобиологического парадокса зрения, следует подчеркнуть, что в обоих механизмах – и фоторецепции, и в механизме повреждающего действия света – ключевой молекулой является ретиналь.

Ретиналь, а именно его 11-цисизомер, является хромофорной группой всех зрительных пигментов. В то же время, высвобождаясь в виде *полностью-транс* изомера на последней стадии фотолиза молекулы зрительного пигмента, ретиналь и продукты его превращения представляют собой потенциально опасные фототоксические соединения – фотосенсибилизаторы, способные инициировать образование в клетке токсических форм кислорода.

Поэтому основное внимание в этой главе (статье, докладе) будет уделено структуре и фотопревращениям родопсина – светочувствительной молекуле, запускающей фоторецепторный процесс (фототрансдукцию), фотохимическим механизмам повреждающего действия света на фоторецепторные клетки сетчатки и клетки пигментного эпителия и, наконец, физиологической системе защиты сетчатки и пигментного эпителия.

Выяснение молекулярных механизмов зрительной рецепции и механизмов защиты от опасности фотоповреждения представляет не только большой естественно-научный интерес, но и позволяет надеяться на успех в понимании патогенеза, в профилактике и, возможно, лечении ряда тяжелых глазных заболеваний.

Механизм фототрансдукции

Механизм фототрансдукции обеспечивает преобразование и усиление почти в миллион раз первичного светового сигнала в фоторецепторной клетке. Упрощенная схема процесса фототрансдукции представляется следующим образом (рис. 1). Квант света поглощается хромофорной группой молекулы родопсина «Р» – 11-*цис* ретиналем и изомеризует её в полностью *транс* форму. Эта реакция происходит менее чем за 200 фемтосекунд. Это первая и единственная фотохимическая реакция в зрении. *Цис-транс* переход ретиналя вызывает, в свою очередь, конформационную перестройку белковой части молекулы (опсина): сначала ближайшего к хромофору окружения, а затем и всей белковой части. Вследствие этого родопсин приобретает способность к взаимодействию со следующим белком в цепи процессов фототрансдукции – G-белком (в зрительной клетке он называется трансдуцином (Т). Активированный трансдуцин, в свою очередь, активирует следующий белок – фермент фосфодиэстеразу (ФДЭ). Этот фермент с высокой скоростью гидролизует низкомолекулярный внутриклеточный передатчик – циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). Падение в цитоплазме наружного сегмента фоторецепторной клетки концентрации свободного цГМФ приводит к гиперполяризации клеточной мембраны. Этот электрический потенциал, собственно говоря, и представляет собой фоторецепторный сигнал, который передается в первом синапсе сетчатки следующим нервным клеткам – биполярным и горизонтальным.

Таким образом, цепочка процессов родопсин – трансдуцин – фосфодиэстераза представляет собой каскад ферментативных реакций, обеспечивающих усиление (размножение) светового сигнала в 10^5 – 10^6 раз.

Активация родопсина в ходе его фотолиза является первым этапом каскада фототрансдукции. Активированным фотопродуктом родопсина является метародопсин II, который и активирует G-белок зрительной клетки, т.н. трансдуцин.

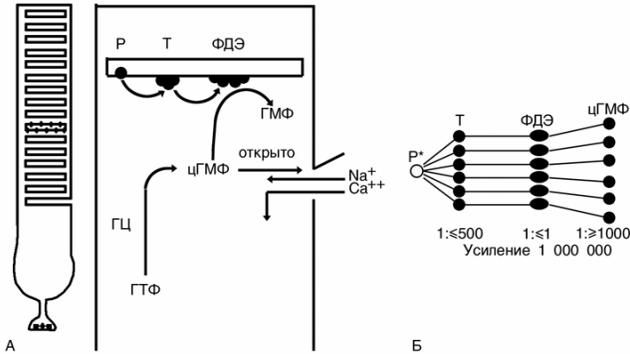


Рис. 1. Схема процесса фототрансдукции.

А) Показаны один фоторецепторный диск в наружном сегменте палочки и в нем основные белки – участники процесса трансдукции: Р – молекула родопсина, Т – молекула трансдуцина или ГТФ-связывающего белка, ФДЭ – молекула фермента фосфодиэстеразы. В цитоплазме наружного сегмента показан фермент гуанилатциклаза – ГЦ. В плазматической (клеточной) мембране палочки показан ионный канал в темновом состоянии.

Через открытый ионный канал внутрь клетки по градиенту концентрации поступают ионы натрия и кальция. Вследствие этого на плазматической мембране поддерживается темновой электрический потенциал, порядка 40 милливольт.

При поглощении кванта света молекула родопсина изменяется, приобретает способность взаимодействовать с трансдуцином и активировать его. В свою очередь, активированный трансдуцин активирует фермент фосфодиэстеразу, которая начинает с высокой скоростью разрушать (гидролизовать) циклический гуанозинмонофосфат – цГМФ. В результате концентрация цГМФ в цитоплазме падает. Как следствие, связанные в темноте с ионным каналом молекулы цГМФ от него «отваливаются», и свободный от них ионный канал переходит в закрытое состояние (блокируются). Поэтому ионы натрия и кальция перестают поступать в цитоплазму, и электрический потенциал на плазматической мембране наружного сегмента повышается, то есть мембрана гиперполяризуется (потенциал на ней становится равным примерно 70 милливольтам). Этот гиперполяризационный потенциал и является тем электрическим сигналом фоторецепторной клетки, который передается через синапс следующим нервным клеткам сетчатки.

В восстановлении исходного темнового состояния зрительной клетки ключевым событием является активация фермента гуанилатциклазы (ГЦ), который вновь синтезирует цГМФ из ГТФ, восстанавливая его концентрацию в цитоплазме наружного сегмента.

Б) Цепочка родопсин— трансдуцин – фосфодиэстераза представляет собой усилительный каскад ферментативных реакций, обеспечивающих усиление (размножение) первичного светового сигнала в $10^5 - 10^6$ раз.

Одна обесцвеченная молекула родопсина активирует около 500 молекул трансдуцина, трансдуцин активирует фосфодиэстеразу в отношении 1:1, и активированная фосфодиэстераза гидролизует до 1000 молекул цГМФ.

Родопсин

Родопсин – типичный представитель класса зрительных пигментов. В сетчатке позвоночных он локализован в рецепторах сумеречного зрения – палочках (рис. 1). Эта сложная молекула представляет собой хромогликопротеид, содержащий одну хромофорную группу, две олигосахаридные цепочки и водонерастворимый мембранный белок опсин. Родопсин стал первым мембранным белком животного происхождения, полная аминокислотная последовательность которого была расшифрована в начале 80-х годов Овчинниковым и сотрудниками и Харгрэйвом и сотрудниками (Овчинников и др., 1982, Hargrave et al., 1982).

Сравнительно недавно удалось кристаллизовать родопсин и методом рентгено-структурного анализа сначала с разрешением в $2,8\text{\AA}$, а позже с разрешением в $2,2\text{\AA}$ получить его трехмерную структуру [Palczewski et al., 2000; Liang et al., 2003; Okada et al., 2004]. Благодаря этим данным в литературе подробно описан хромофорный центр родопсина: конформационное состояние *11-цис*-ретинала и его взаимодействие с окружающими аминокислотными остатками.

Хромофорной группой всех без исключения зрительных пигментов человека и животных является альдегид витамина A_1 или витамина A_2 или, соответственно, ретиналь₁ или ретиналь₂, причем только одна из его изомерных форм, а именно его *11-цис*-форма. Родопсин – сравнительно небольшой белок: молекулярная масса составляет около 40 кДа, а полипептидная цепь состоит из 348 аминокислотных остатков. В молекуле родопсина можно выделить внутримембранный, внутридисковый и цитоплазматический домены. Внутримембранный домен состоит из хромофорного центра и семи трансмембранных α -спиралей, представляющих собой остов опсина. Хромофорная группа – *11-цис*-ретиналь ковалентно связан с ϵ -аминогруппой лизина (Lys-296) спирали TM7 через протонированное Шиффово основание. Протонирование Шиффова основания увеличивает делокализацию электрона вдоль полиеновой цепи ретинала. Спектр поглощения родопсина состоит из трех основных полос: α - (500 нм), β - (350 нм) и γ - (280 нм) (рис. 3). Две первые связаны с поглощением хромофорной группы, а γ -полоса обусловлена в основном поглощением ароматических аминокислот белка – триптофана, тирозина и фенилаланина. Именно α -полоса в спектре поглощения родопсина определяет кривую видности палочкового сумеречного (скотопического) зрения с максимумом в сине-зеленой области спектра (500 нм). Фоточувствительность родопсина необычайно высока: квантовый выход фотореакции составляет 0,67.

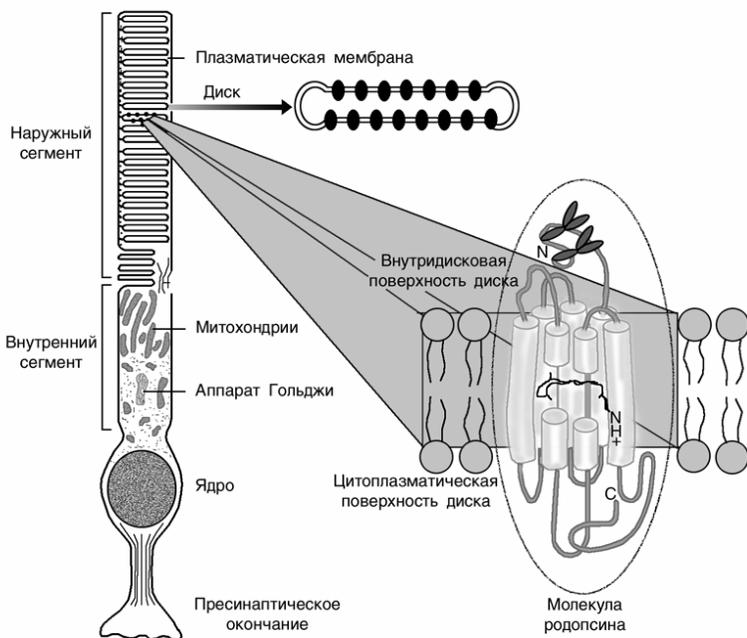


Рис. 2. Схематическое изображение палочки, фоторецепторного диска наружного сегмента, фоторецепторной мембраны диска и молекулы родопсина, в центре которой находится ее хромофорная группа – 11-*цис*-ретиналь, ковалентно связанный с белковой частью (опсином)

Фотопревращение или фотолиз родопсина включает собственно фотохимическую реакцию и последующие темновые, зависящие от температуры превращения. Схема фотолиза молекулы родопсина показана на рис. 4. Единственной фотохимической реакцией зрения является *цис-транс* изомеризация хромофорной группы – 11-*цис*-ретиналя. Эта реакция происходит с уникально высокой скоростью – менее чем за 200 фс. За это время образуется первый фотопродукт – фотородопсин, в котором 11-*цис*-ретиналь уже перешел в *полностью-транс* форму, но продолжает быть ковалентно связанным с белком. До сих пор остаётся неясным, почему скорость фотоизомеризации ретиналя как хромофора увеличивается почти на два порядка по сравнению со скоростью его фотоизомеризации в растворе. Роль белкового окружения в этих процессах не вызывает сомнения, однако внутримолекулярные механизмы, объясняющие этот феномен, остаются до конца не изученными.

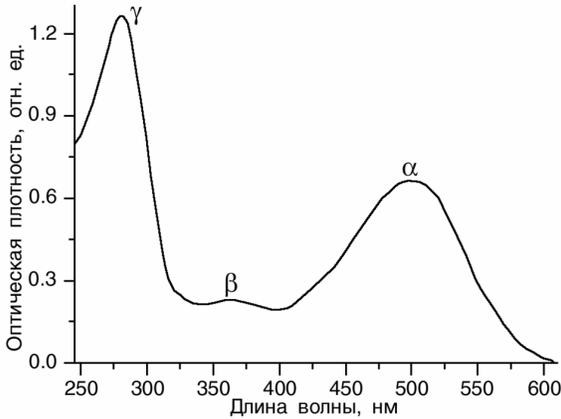


Рис. 3. Оптический спектр поглощения родопсина

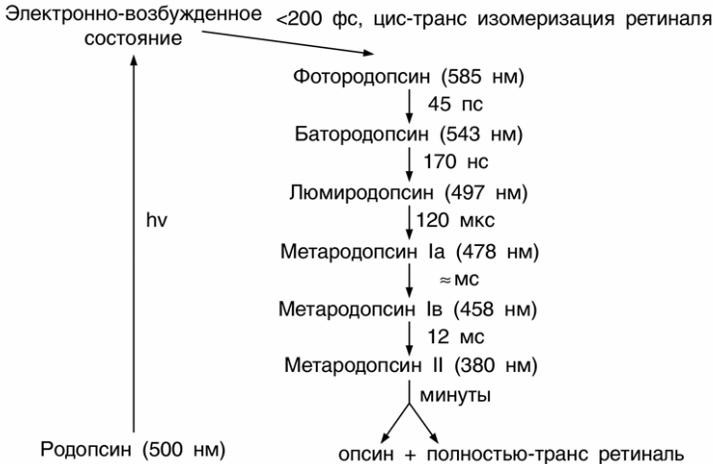


Рис. 4. Схема фотопревращения (фотолиза) родопсина (подробности в тексте)

Фотородопсин за 40–45 пикосекунд переходит в следующий продукт – батородопсин. На этой стадии происходят лишь небольшие структурные изменения в ближайшем белковом окружении ретиналя. Образование батородопсина сопровождается стабилизацией значительной части энергии поглощенного кванта света, которая затем тратится на последующие конформационные (структурные) перестройки всей белковой части молекулы родопсина. Батородопсин затем в течение нескольких десятков наносекунд переходит в следующий продукт – люмиродопсин. На этой и последующих стадиях в белке происходят уже существенные кон-

формационные изменения. Люмиродопсин превращается далее в метародопсин I и тот, наконец, в метародопсин II. Максимум спектра поглощения метародопсина II находится при 380 нм, то есть в УФ-области спектра, хотя его довольно широкий спектр поглощения захватывает и синюю область видимого спектра. Метародопсин II и представляет собой тот промежуточный, долгоживущий продукт фотопревращения родопсина, который приобретает способность к взаимодействию с G-белком (трансдуцином).

Процесс фотопревращения (фотолиза) родопсина завершается разрывом ковалентной химической связи теперь уже полностью-*транс* ретиналя с белком. Таким образом, ретиналь высвобождается из белка и оказывается в фосфолипидном окружении фоторецепторной мембраны. Ретиналь должен быть как можно скорее удален из мембраны, так как в противном случае он может стать источником опасности сначала для зрительной клетки, а затем и для клеток пигментного эпителия.

Зрительный цикл обеспечивает эффективное удаление полностью-*транс* ретиналя из фоторецепторной мембраны с тем, чтобы затем снова вернуть его в эту мембрану, но уже в 11-*цис* изомерной форме (рис. 5). Только этот изомер обладает способностью «войти», как ключ в замок, в хромофорный центр («хромофорный карман») белковой части молекулы (опсина) и вновь образовать ковалентную химическую связь с 296-м лизиновым аминокислотным остатком в его седьмой α -спирали.

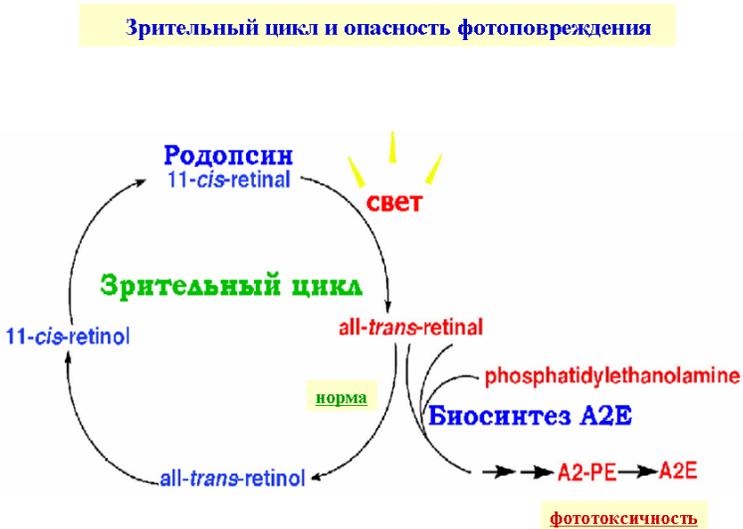


Рис. 5. Зрительный цикл и опасность фотоповреждения

Таков, схематично, путь регенерации родопсина, то есть возвращения его в исходное темновое состояние с максимумом оптического поглощения при 500 нм. Регенерация родопсина – одно из ключевых событий в процессе темновой адаптации сетчатки. О зрительном цикле и опасности фотоповреждения смотри ниже.

Зрительный цикл и опасность фотоповреждения

Основные события зрительного цикла представляются в настоящее время следующим образом (Saari, 2001, Sun, Molday, Nathans, 1999, Sun, Nathans, 2001). Схематически они представлены на рис. 6А. Как уже говорилось, после отщепления от белковой части (опсина) и высвобождения из молекулы зрительного пигмента *транс*-ретиноль следует как можно скорее удалить из фоторецепторной мембраны диска. Недавно выяснилось, что ключевую роль в его активном транспорте из мембраны играет специальный белок – т. н. АТФ-связывающий кассетный переносчик ретиналя (ATP-binding cassette transporter или сокращенно ABCR). Этот довольно большой мембранный белок расположен в краевой «петле» диска, С затратой энергии АТФ он активно переносит свободный *транс*-ретиноль через фоторецепторную мембрану в цитоплазму наружного сегмента (Sun, Molday, Nathans, 1999). Причем, скорее всего, он переносится через мембрану в комплексе с фосфатидилэтаноламином (одним из трех основных фосфолипидов фоторецепторной мембраны). Затем, будучи уже в цитоплазматическом пространстве наружного сегмента, с помощью фермента ретинол-дегидрогеназы *транс*-ретиноль превращается в *транс*-ретинол или витамин А, который переносится из фоторецепторной клетки в субретинальное межклеточное пространство. Здесь он связывается со следующим белком зрительного цикла – т.н. межфоторецепторным ретинол-связывающим белком (interphotoreceptor retinoid-binding protein, IRBP), и с его помощью переносится в клетку пигментного эпителия.

Наследственные или благоприобретенные дефекты любого из участников зрительного цикла способны привести к его нарушению. В настоящее время накапливается все больше сведений о том, что мутация гена, кодирующего синтез одного из ключевых участников зрительного цикла, а именно синтез белка ABCR, ответственна за избыточное накопление в пигментном эпителии липофусциновых гранул (рис. 6Б) и за возникновение и развитие болезни Штаргарда (Allikmets, Singh, Sun et al., 1997). Подобные изменения этого же ABCR-гена обнаружены и у пациентов, страдающих старческой макулярной дегенерацией сетчатки (Allikmets, Shroyer, Singh et al., 1997).

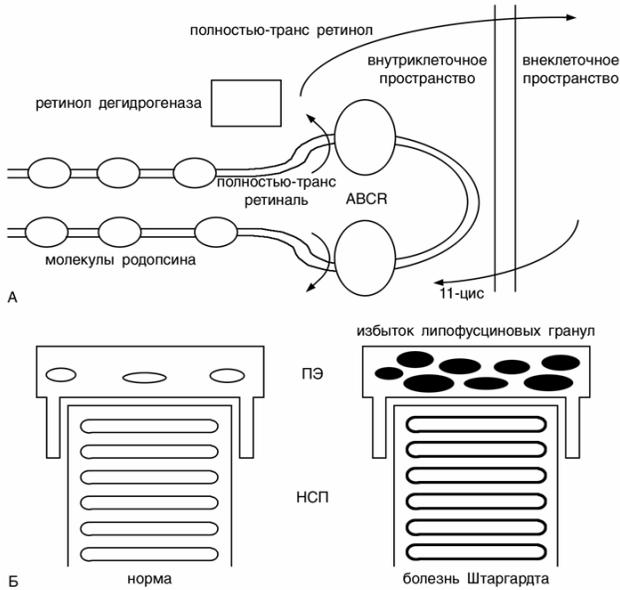


Рис. 6. А) Механизм активного удаления полностью-*транс* ретиналя из фоторецепторной мембраны диска после фотолиза родопсина (подробности в тексте). Б) Накопление в клетках пигментного эпителия липофусциновых гранул, вызванное наследственным дефектом белка ABCR или его фотосенсибилизированным ретиналем окислением (повреждением)

Связь дефекта белка ABCR с развитием ряда форм дегенерации сетчатки представляется следующим образом. Невозможность нормально, достаточно быстрого удаления ретиналя из фоторецепторной мембраны приводит к его накоплению в этой мембране, что представляет опасность в силу его фототоксичности (см. ниже), и затем к его химическому взаимодействию с одним из трех основных фосфолипидов в этой мембране – с фосфатидилэтаноламином. Ситуация при этом усугубляется тем, что с одной молекулой фосфатидилэтаноламина взаимодействуют сначала одна, а потом и вторая молекула *транс*-ретиналя. В результате в мембране образуется т. н. бис-ретиналиден-фосфатидилэтаноламин (A2E-PE). Судя по всему, он и сам по себе фототоксичен, но главное – он служит предшественником следующего крайне фототоксичного соединения – бис-ретинилиден-этанолamina (в англоязычной литературе pyridinium bisretinoid или сокращенно A2E) (рис. 5 – A2E является основным флуорофором липофусциновых гранул, в них обнаруживается более десятка флуорофоров). Поэтому липофусциновые гранулы сильно флуоресциру-

ют. В культуре ткани пигментного эпителия А2Е способен проявлять как детергентные свойства, повреждая, например, наружную митохондриальную мембрану и запуская апоптоз клетки (Suter et al, 2000), так и выступать в качестве фотосенсибилизатора свободно-радикального повреждения клетки, что в конечном счете также способно вызвать ее апоптоз. Механизм образования А2Е до конца не выяснен. В частности твердо не установлено, где именно происходит образование А2Е из А2Е-РЕ –либо в клетке пигментного эпителия в фаголизосоме [фаголизосома – это слившаяся с лизосомой фагосома; фагосома – это фагоцитированный пигментным эпителием обломок наружного сегмента фоторецептора], либо – в наружном сегменте, в самой фоторецепторной мембране, и затем уже в составе обломка наружного сегмента попадает в пигментный эпителий.

Согласно современным представлениям избыточное накопление липофусциновых гранул и А2Е в пигментном эпителии связано с дегенеративными изменениями сетчатки, а также с усугубляющим действием ЕА- и синего света при различных формах дегенерации (Fine, Berger, Maguire et al., 2000). Механизм этой связи в настоящее время интенсивно изучается.

Молекулярные механизмы фотоповреждения

В принципе можно выделить два класса фотоповреждений. В первом случае речь идет о сравнительно низких интенсивностях света и, главное, о его длительном действии (от дней до недель), во втором – о гораздо более высоких световых интенсивностях и облучении от секунд до часов. В первом случае повреждаются в основном фоторецепторы, во втором – в первую очередь клетки пигментного эпителия, а затем сетчатки. Максимум спектра действия для первого класса фотоповреждений соответствует спектру поглощения родопсина, т.е. наиболее эффективна синезеленая область видимого спектра, для второго – спектр действия находится в УФ- и синей областях спектра (см: Островский, Федорович, 1987; Kremers, van Norren, 1988). Для человека и дневных животных гораздо большую опасность представляет слишком яркий свет в ультрафиолетовой и синей областях спектра. О механизмах такого рода повреждения, в основе которого лежат фотохимические реакции сенсibilизированного свободно-радикального окисления, далее и пойдет речь. Эффективность этих реакций определяется тремя факторами: наличием поглощающих свет фотосенсибилизаторов, субстратов окисления и присутствием кислорода. Как уже говорилось, в сетчатке и в пигментном эпителии все три фактора присутствуют в полной мере.

Фотосенсибилизаторами могут служить как эндогенные, так и экзогенные окрашенные соединения. К эндогенным фотосенсибилизаторам

сетчатки и пигментного эпителия в первую очередь относятся ретиналь и продукты его превращения. Начнем их рассмотрение с липофусциновых гранул и их основного флуорофора – бис-ретинилиден-этанолamina (A2E) (рис. 7).

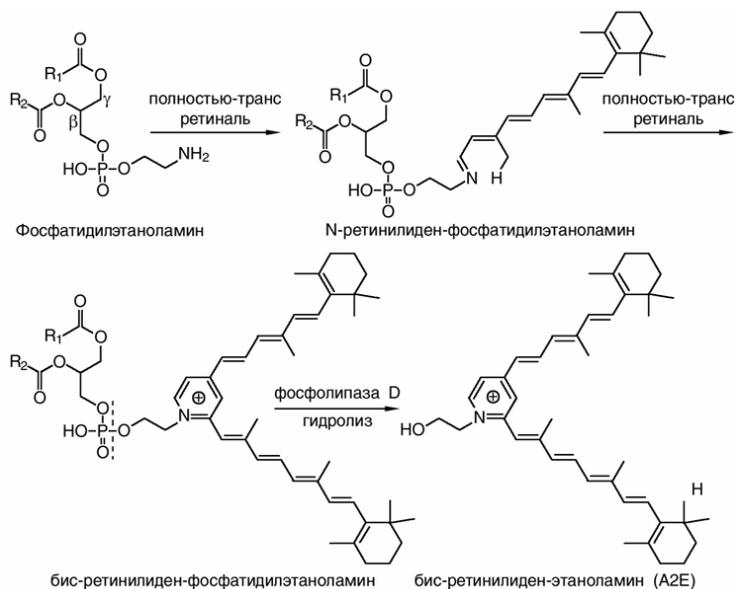


Рис. 7. Синтез основного флуорофора липофусциновой гранулы — бис-ретинилиден-этанолamina (A2E) из двух молекул полностью-*транс* ретиналя и фосфатидилэтанолamina

Ранее считалось, что липофусциновые гранулы являются безвредным балластом, накапливающимся в постмитотических клетках по мере старения организма. Однако оказалось, что они фототоксичны, поскольку обладают способностью генерировать при действии света активные формы кислорода – синглетный кислород и его супероксидные радикалы (Островский, Донцов, Сакина и др., 1992; Boulton, Dontsov, Ostrovsky et al., 1992; Boulton, Dontsov, Ostrovsky et al., 1993; Wassel et al., 1999; Rozanowska et al., 1999).

Спектры действия генерации этих активных форм кислорода от длины волны облучения указывают на то, что УФ- и синий свет действуют гораздо эффективнее (опаснее), нежели зеленый и красный. На рис. 8 показана зависимость накопления супероксидных анион-радикалов кислорода от длины волны облучения суспензии липофусциновых гранул, выделенных из пигментного эпителия донорских глаз человека (Boulton, Dontsov, Ostrovsky et al., 1993). Давно описанная опасность повреждающе-

го действия синего света на сетчатку и пигментный эпителий (Ham, Ruffolo, Mueller et al., 1978) скорее всего связана с фототоксичностью липофусциновых гранул.

Выступая в роли сенсibilизаторов фотоокисления, липофусциновые гранулы способны стимулировать окисление липидов и кардиолипиновых липосом, белков (инактивацию их ферментативной активности), повреждать биологические мембраны (Dontsov, Glickman, Ostrovsky 1999; Wassel, Davis, Bardsley et al. 1999). Согласно нашим предварительным данным, липофусциновые гранулы способны при их облучении синим светом вызывать апоптоз клетки пигментного эпителия, то есть ее запрограммированную гибель. Облучение же в культуре ткани клеток пигментного эпителия, нагруженных флуорофором липофусцина – А2Е, неизбежно приводит к их апоптозу (Sparrow, Nakanishi, Paris, 2000). Следует отметить, что апоптоз рассматривается сейчас как общий конечный путь гибели клеток при многих заболеваниях сетчатки, включая различные формы дегенерации и дистрофии.

Механизм свободно-радикального фотоокисления включает как прямую реакцию взаимодействия активированного сенсibilизатора с компонентами клетки, так и образование сначала активных форм кислорода, которые, в свою очередь, взаимодействуют и повреждают ее нуклеиновые кислоты, белки и липиды. Недавно было показано, как высокотоксичный синглетный кислород, образующийся при облучении А2Е синим светом, повреждает не только биохимические компоненты клетки, но атакует и сами молекулы А2Е, превращая их в еще более токсичную эпоксидную форму (Sparrow Zhou, Ben-Shabat et al., 2002; Ben-Shabat, Itagaki, Jockusch et al., 2002).

Исследования фототоксичности липофусциновых гранул и их флуорофоров, особенно А2Е, активно продолжается. Цель этих работ – подробное выяснение их роли в патогенезе ряда дегенеративных заболеваний сетчатки.

Фототоксичность ретиналя

Ретиналь – хромофор в молекуле зрительного пигмента и предшественник А2Е – флуорофора липофусциновых гранул. Он представляет собой один из эффективных природных сенсibilизаторов. Как видно из таблицы 1, его фотосенсibilизирующая активность лишь вдвое ниже, чем у такого классического сенсibilизатора, как рибофлавин (Сапезинский, 1988).

Как говорилось выше, конечным продуктом обесцвечивания родопсина ($\lambda_{\text{макс.}}=500\text{нм}$) является метародопсин II ($\lambda_{\text{макс.}}=380\text{ нм}$) или уже высвободившийся полностью-*транс* ретиналь ($\lambda_{\text{макс.}}=380\text{ нм}$). В своё вре-

мя нами было показано, что при действии света на обесцвеченные фоторецепторные мембраны, содержащие метародопсин II или *транс*-ретинаял, наблюдается фотоокисление и белковой части родопсина (SH-групп опсина), и липидов фоторецепторной мембраны (Погожева, Федорович, Островский и др. 1981). В этой же работе был определен спектр действия, т.е. зависимость окисления белков и липидов этой мембраны от длины волны облучающего света. Оказалось, что их фотоокисление наиболее выражено в области 380 нм, то есть в той же области, что и спектр поглощения свободного ретинаяла (или метародопсина II). Следствием этого являются необратимая агрегация молекул родопсина в фоторецепторной мембране, уменьшение способности родопсина к регенерации при добавлении извне 11-*цис*-ретинаяла, т. е. нарушение его нативных свойств.

Субстраты фотоокисления

Молекулярные компоненты фоторецепторной мембраны – белки (родопсин) и липиды — представляют собой идеальные субстраты для реакции фотосенсибилизированного окисления.

Тремя основными фосфолипидами фоторецепторной мембраны являются фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин. Уникален состав этих фосфолипидов: более 60% – это полиненасыщенные жирные кислоты, причем на долю длинноцепочечной, т.н. докозагексаеновой кислоты, содержащей 22 углеродных атома и 6 двойных связей (C22:6), приходится около 75% от всех жирных кислот (см. Островский, Говардовский, 1992). Благодаря этому фоторецепторная мембрана обладает исключительно низкой вязкостью, равной примерно двум пуазам (это вязкость оливкового масла). Такая малая вязкость позволяет родопсину и другим белкам этой мембраны претерпевать быструю вращательную и более медленную латеральную диффузию.

Фотоокисление белков и липидов фоторецепторной мембраны идет параллельно и практически независимо. Действительно, добавление известного ингибитора перекисного окисления липидов – 2,6-ди-трет-бутилокситолуола (дибунола) полностью предотвращает фотоокисление липидов в этой мембране и лишь частично снижает скорость окисления тиоловых групп белка (Погожева, Федорович, Островский и др. 1981).

Следствием фотоокисления родопсина и липидов в фоторецепторной мембране являются:

- образование внутри- и межмолекулярных дисульфидных связей («сшивок»);
- образование необратимых белковых агрегатов, подвижность которых в мембране крайне низка;

- потеря способности окисленного и агрегированного родопсина к регенерации как *in vitro*, так и *in vivo* (Погожева, Кузнецов, Лившиц и др., 1981; Погожева, Кузнецов В.А., Федорович и др., 1981; Островский, Федорович, 1982; Островский, Федорович, 1994; Островский, Федорович, 1996).

Необратимая агрегация родопсина в мембране, вызванная повреждающими дозами света, приводит к потере его нативных свойств и нормальной функциональной активности. Чувствительным тестом на нативность зрительного пигмента является его способность к регенерации при добавлении экзогенного 11-*cis*-ретинала. И в опытах *in vitro* на суспензии фоторецепторных мембран (Островский, Федорович, 1982), и в опытах *in vivo* при облучении глаза белой крысы (Капуста, Зак, Федорович и др., 1987) было показано, что способность родопсина к регенерации уменьшается, а электроретинограмма – подавляется или исчезает вовсе. Ретиналь способен выступать фотосенсибилизатором окисления и повреждения не только родопсина, но и других ретиналь-связывающих и ретиналь-переносящих белков. Показано, что он сенсибилизирует фотоокисление и повреждение двух ключевых белков зрительного цикла – ABCR, о котором речь шла выше, и водорастворимого межфоторецепторного ретиналь/ретинол-переносящего белка (IRBP). При действии света в полосе поглощения ретинала, то есть в ближней ультрафиолетовой области ($\lambda=380$ нм), этот белок IRBP повреждается: часть его цистеиновых и ароматических аминокислотных остатков окисляется и, что самое важное, при этом ухудшаются его функциональные свойства, а именно снижается способность связывать ретинол (Fedorovich, Semenova, Grant et al., 2000).

Крайне чувствителен к фотоповреждению, вызванному ретиналем как фотосенсибилизатором, оказался белок ABCR (Sun., Nathans, 2001), о котором подробно шла речь выше. Как и в случае родопсина, молекулярным механизмом повреждения ABCR является его агрегация (однако не за счет образования дисульфидных связей). Фотоокисление ABCR, обладающего, помимо способности связывать и переносить ретиналь, также и АТФазной активностью, приводит к тому, что связанный с ним *транс*-ретиналь теряет способность стимулировать его АТФазную активность. В результате ретиналь не «выбрасывается» из наружного сегмента в межклеточное пространство.

Иными словами, вызванный светом дефект ABCR (как и его наследственный дефект) ведет к накоплению в фоторецепторной мембране *транс*-ретинала, образованию из него А2Е и избыточного количества липофусциновых гранул (Sun., Nathans, 2001) (рис. 6Б). Белок ABCR оказался более чувствительным к фотоокислению и повреждению, нежели другие белки фоторецепторной мембраны, в том числе родопсин, α -субъединица трансдуцина, белок цГМФ-регулируемого ионного канала, а так-

же периферические белки этой мембраны – родопсиновая киназа и арестин.

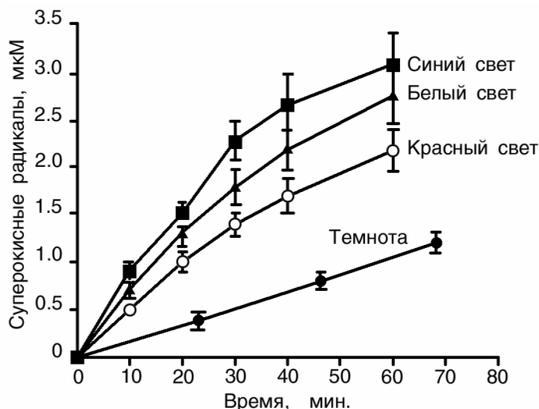


Рис. 8. Зависимость генерации липофусциновыми гранулами суперокисных радикалов кислорода от длины волны облучения (подробности см: Boulton , Dontsov, Ostrovsky et al., 1993)

Кислород

Кислород является третьим необходимым участником реакции фотоокисления.

Следует отметить, что вдоль фоторецепторной клетки сетчатки парциальное давление кислорода различно. В дистальной части ее наружного сегмента, ближе расположенной к пигментному эпителию и сосудистой оболочке, концентрация кислорода, по сравнению с проксимальной (базальной), больше. Действительно, если в области верхушки наружного сегмента напряжение кислорода P_{O_2} составляет около 100 мм ртутного столба, что эквивалентно концентрации кислорода в артериальной крови, то в области проксимальной части (на границе с внутренним сегментом) P_{O_2} составляет всего лишь около 10 мм ртутного столба в темноте и порядка 30 мм на свету. Разница может объясняться тем, что во внутреннем сегменте фоторецепторной клетки содержится большое скопление митохондрий, которые, как известно, являются основными потребителями кислорода.

С различным парциальным давлением кислорода вдоль фоторецепторной клетки, вероятнее всего, связан градиент фотоповреждения ее наружного сегмента. Его дистальная часть содержит «старые», накопившие молекулярные дефекты диски, более чувствительные к повреждению.

Свидетельством тому служит обнаруженный нами градиент уменьшения количества способных к титрованию SH-групп, идущий от верхушки наружного сегмента («старые» диски) к его основанию (базальные «новые» диски) (Деревянченко, Федорович, Островский, 1985).

В опытах на крысах нами было показано, что избыток кислорода (гипероксия) и особенно гипербарическая оксигенация усугубляют повреждающее действие света на сетчатку, при этом существенно нарушается регенерация родопсина и намного снижается электрическая активность сетчатки (Капуста, Зак, Федорович и др., 1987).

Системы защиты структур глаза от опасности фотоповреждения

Итак, сочетание света, кислорода, пигментов-фотосенсибилизаторов и легко окисляющихся субстратов (липидов и белков) создает реальную угрозу для возникновения и развития в сетчатке и пигментном эпителии фотодеструктивных процессов. Этот парадокс зрения, когда свет выступает и носителем информации, и потенциально опасным повреждающим фактором, был решен в ходе эволюции созданием достаточно надежной многоуровневой системы защиты от опасности фотоповреждения. Эта система включает:

- обновление фоторецепторных мембран,
- комплекс эндогенных антиоксидантов,
- механизм максимально быстрого удаления свободного ретиналя из зрительной клетки,
- систему оптических фильтров глаза, в которой ключевую роль играет хрусталик, желтеющий у приматов и человека с возрастом.

Естественно, нарушения в этой системе приводят к возрастанию риска светового повреждения сетчатки и пигментного эпителия.

Обновление фоторецепторных мембран

Итак, первый и наиболее радикальный способ защиты – это постоянное обновление фоторецепторных мембран и всего наружного сегмента зрительной клетки (и палочки, и колбочки). Обновление позволяет избежать накопления в наружном сегменте молекулярных дефектов, благодаря чему молекулярная машинерия фоторецепторного механизма остается эффективной на протяжении всей жизни организма. Процесс постоянного обновления наружного сегмента заключается в том, что в его базальной части постоянно образуются новые фоторецепторные мембраны (фоторецепторные диски), а в апикальной части пачки – «старых» дисков (верхушка наружного сегмента) обламываются (Young, 1974; а также см.:

Островский, Донцов, 1984; Островский, Говардовский, 1992). Эти «обломки» затем эффективно фагоцитируются клетками пигментного эпителия. Процесс этот исключительно интенсивный: в течение суток около 100 дисков заново образуется и обламывается в каждой палочке. Поскольку многочисленные отростки клетки пигментного эпителия окружают более десятка палочек, то за сутки каждая клетка «переваривает» около тридцати тысяч (!) отработанных дисков. Клетка пигментного эпителия является одной из самых активных фагоцитирующих клеток в организме.

Процессу радикального обновления наружного сегмента фоторецепторной клетки, однако, свойственны издержки, связанные с возрастом. Речь, в частности, идет об избыточном накоплении в пигментном эпителии «пигмента старости» – липофусциновых гранул, являющихся, по существу, недопереваренными обломками наружных сегментов – фагосомы и обладающих фототоксичностью (см. выше). Липофусциновые гранулы могут занимать до 20% объема клетки.

Антиоксиданты

Следующая линия защиты от фотоповреждения – антиоксидантная. Речь идет о торможении процессов свободно-радикального фотосенсибилизированного окисления. В эту систему входят витамины Е (α -токоферол), С (аскорбиновая кислота), таурин и набор антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталазы). В дополнение к этому, в своё время нами было показано, что антиоксидантная система защиты усиливает экранирующие пигменты глаза – меланосомы (у позвоночных) и человека и оммохромы (у беспозвоночных) (Островский, Донцов, Сакина, 1980; Донцов, Островский, Сакина, 1980; Островский, Донцов, 1985; Островский, Федорович, Донцов, 1987; Ostrovsky, Sakina, Dontsov, 1987). Этим в значительной мере объясняется, почему альбиносы столь чувствительны к фотоповреждению. Интересно, что недостаток меланина у альбиносов частично компенсируется повышенным содержанием в их сетчатках α -токоферола (Ostrovsky, Sakina, Dontsov, 1987).

Удаления свободного полностью-транс ретиналя из зрительной клетки

О механизме максимально быстрого удаления свободного полностью-*транс* ретиналя из зрительной клетки в результате работы зрительного цикла, и в первую очередь одного из его ключевых белков – АТФ-зависимого кассетного переносчика ABCR, говорилось выше.

Оптическая система защиты

Наконец, важная система защиты сетчатки и пигментного эпителия от фотоповреждения – оптическая. Эта система состоит из последовательности светофильтров – роговицы, хрусталика, экранирующих пигментов (меланосом и оммохромов) (подробнее см. Островский, Федорович, Донцов, 1987). Эти светофильтры отсекают от сетчатки и пигментного эпителия коротковолновое излучение – ультрафиолетовое и частично синее: кроме того, они уменьшают хроматическую аберрацию, улучшая, таким образом, контрастную чувствительность и остроту зрения.

Хрусталик как светофильтр

Роль ключевого светофильтра играет хрусталик. У многих позвоночных животных, обитающих в яркой световой среде, хрусталик от рождения интенсивно желтый, то есть эффективно отсекающий от сетчатки и пигментного эпителия УФ- и синий свет. У человека хрусталик с возрастом желтеет, то есть в старческом (некатарактальном!) хрусталике перед сетчаткой как бы «вводится» дополнительный желтый светофильтр (Федорович, Зак, Островский, 1994) (рис. 9).

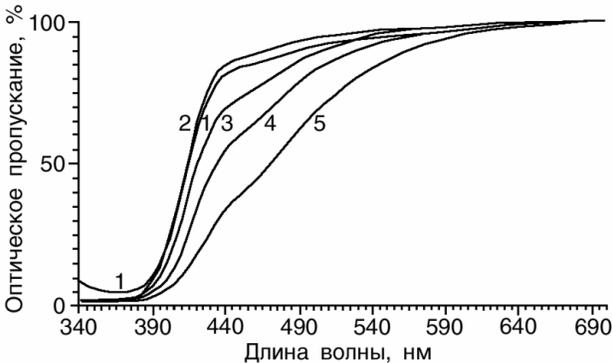


Рис. 9. Естественное возрастное пожелтение хрусталика глаза человека (подробности см.: Федорович, Зак, Островский, 1994)

- 1 – новорожденные
- 2 – от 8 до 29 лет (10 хрусталиков)
- 3 – от 31 до 49 лет (25 хрусталиков)
- 4 – от 52 до 65 лет (14 хрусталиков)
- 5 – старше 70 лет (13 хрусталиков)

Это крайне важно для сетчатки и пигментного эпителия, поскольку возрастает эффективность их оптической защиты. У детей же и в моло-

дом возрасте хрусталик, как правило, бесцветный и эффективно поглощает лишь ультрафиолетовое излучение. Следует отметить, что в младенческом возрасте хрусталик имеет «ультрафиолетовое окно», то есть пропускает к сетчатке определенную часть падающего на глаз УФ-света. Остается не ясным, является ли это «окно» лишь следствием несовершенства постнатального хрусталика (его белков кристаллинов) или оно необходимо для постнатального развития сетчатки и пигментного эпителия. Примерно к 15 годам УФ-«окно» исчезает и постепенно происходит пожелтение хрусталика, наиболее выраженное в старческом возрасте.

Роль светофильтра способен выполнять на ранних стадиях помутнения и катарактальный хрусталик (Розенблюм, Зак, Островский и др., 1995: Rosenblum, Zak, Ostrovsky et al., 2000). Ухудшая качество изображения на сетчатке такой желтоватый хрусталик эффективно задерживает коротковолновое излучение, способен до некоторой степени уменьшить хроматическую аберрацию и предотвратить вызванное светом усугубление некоторых форм дегенерации сетчатки.

Неблагоприятным следствием экстирпации хрусталика при катаракте является многократное повышение риска повреждения сетчатки УФ- и синим светом. Исходя из этих представлений нами еще в середине 80-х годов был разработан и внедрен в клиническую практику «искусственный хрусталик» – новая окрашенная интраокулярная линза «Спектр» (Островский, Линник, 1987; Линник, Островский, Салиев и др., 1991; Линник, Островский, Зак и др., 1992). Подобно естественному хрусталику пожилого человека, эта линза полностью отсекает ультрафиолетовую и в значительной мере коротковолновую (фиолетово-синюю) часть видимого спектра. Важно отметить, что нормальное цветовосприятие пациента с имплантированным желтоватым хрусталиком не нарушается.

На рис. 10 сведены спектры поглощения основных эндогенных фотосенсибилизаторов – ретинола, ретиналя, липофусцина, а также спектры пропускания хрусталика глаза пожилого человека и линзы «Спектр». Видно, что и хрусталик глаза пожилого человека, и желтоватая линза в значительной мере отсекают коротковолновую часть видимого спектра, в которой поглощают опасные для сетчатки фотосенсибилизаторы. К сожалению, эффективных и безопасных лекарственных средств (антиоксидантов), способных предотвратить фотосенсибилизированное повреждение сетчатки и пигментного эпителия, пока не найдено.

Заключение

Итак, очевидно, что свет в зрении способен выступать не только как носитель зрительной информации, но и как фактор риска. В обоих случаях ключевой молекулой, поглощающей свет и запускающей как

нормальный фоторецепторный процесс, так и процесс фотоповреждения, является ретинаяль. Сразу следует подчеркнуть, что помимо ретиналя процесс фотоповреждения могут запускать в фоторецепторных клетках и клетках пигментного эпителия и другие эффективные фотосенсибилизаторы, в первую очередь продукты фотопревращения самого ретиналя (A2E и эпокси-формы A2E), липофусциновые гранулы, флавины и флавопротеины, а также при определённых условиях меланин и меланопсин.

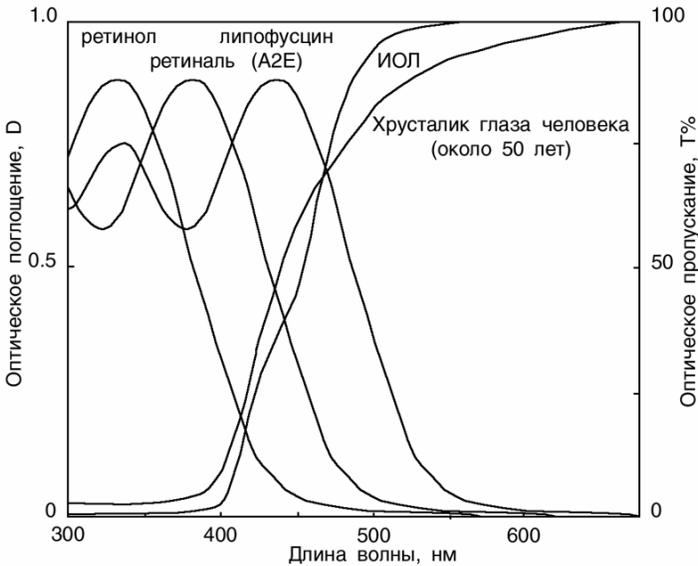


Рис. 10. Спектры поглощения (D) эндогенных фотосенсибилизаторов – ретинола, ретиналя и липофусцина и спектры пропускания (T%) хрусталика глаза человека около 50 лет и желтоватой интраокулярной линзы (ИОЛ «Спектр»)

Если триггером фоторецепторного процесса является фотохимическая реакция изомеризации хромофорной группы в молекуле зрительного пигмента – 11-цис-ретиналя, то в основе фотоповреждения лежат фотосенсибилизированные реакции свободно-радикального окисления.

Благодаря особенностям 11-цис-ретиналя как хромофора и его ближайшему белковому окружению молекула зрительного пигмента родопсина обладает уникальной фотохимической активностью: высоким квантовым выходом изомеризации (0,65), который почти втрое превышает квантовый выход изомеризации ретиналя в растворе (0,22–0,24), и фантастически высокой скоростью фотоизомеризации, которая составляет 146 фемтосекунд, в то время как в растворе эта скорость – 1–2 пико-

секунды (подробнее см. Liu and Colmenares, 2003). Молекулярная организация хромофорного центра родопсина и основы его высокой световой чувствительности в настоящее время подробно исследуются, в том числе методами молекулярного моделирования (Kholmurodov, Feldman, Ostrovsky, 2005 (in press)).

Ретиналь в полностью-*транс* форме, высвободившийся на последней стадии фотолиза родопсина, сам по себе и особенно продукты его превращения в фоторецепторных клетках и клетках пигментного эпителия – А2Е и эпокси-формы А2Е обладают фототоксичностью и представляют опасность как фотосенсибилизаторы процессов окисления. Причём если сам А2Е, будучи амфифильной молекулой, связан с мембраной, то гидрофильный эпокси-А2Е выходит в результате фотоокисления А2Е в цитоплазму и, будучи исключительно токсичным, представляет для клетки ещё большую опасность, повреждая, например, ДНК (Sparrow, Zhou, Cai, 2003).

А2Е является основным, но далеко не единственным флуорофором липофусциновых гранул. Липофусциновые же гранулы, как рассматривалось выше, при освещении эффективно генерируют активные формы кислорода, включая синглетный кислород, суперокисные радикалы и гидрореперекиси. Будучи токсичными, они инициируют прямо или опосредованно окисление липидов, белков, повреждение лизосом и в конечном счёте апоптоз.

При обсуждении механизмов фотоповреждения сетчатки и пигментного эпителия особую важность представляет знание спектра действия фотосенсибилизированных реакций, вызывающих такое повреждение. Совокупность полученных к настоящему времени данных свидетельствует о том, что максимум спектра действия этих реакций находится в синей области спектра. Особенно впечатляет почти полное совпадение спектров действия фотоповреждения пигментного эпителия глаза приматов в опытах Хэма (т.н. «blue light damage») (Ham et al., 1978) и потребление кислорода липофусциновыми гранулами при их освещении (Pawlak et al., 2002). В обоих случаях речь идёт о синей области спектра. Поэтому исключительно велика вероятность того, что именно фототоксичность липофусциновых гранул ответственна в основном за повреждение клеток пигментного эпителия. Повреждение же этих клеток, как хорошо известно, ведёт затем к дегенерации и фоторецепторных клеток сетчатки.

Липофусциновые гранулы или «пигмент старости» неумолимо накапливаются в клетках пигментного эпителия с возрастом и никуда не исчезают из этих клеток до конца жизни. Накоплено много данных о связи накопления этих, обладающих фототоксичностью, гранул с усугублением развития дегенерации сетчатки, в том числе одной из её самых распространённых форм – старческой макулярной дегенерацией сетчатки. Пока-

зано, что накопление липофуциновых гранул хронологически совпадает с развитием этого заболевания и что область сетчатки, в которой накапливается наибольшее количество этих ярко флуоресцирующих гранул, наиболее чувствительна к дегенерации (Holz et al., 2001). Именно увеличивающаяся с возрастом опасность фотоповреждения сетчатки, которая коррелирует с накоплением в пигментном эпителии липофуциновых гранул и особенно с развитием старческой макулярной дегенерации сетчатки.

Накоплено достаточно много эпидемиологических данных об усугубляющем действии света в патогенезе этого заболевания (Taylor et al., 1992; Cruickshanks et al., 1993; Klein et al., 1998; Wang et al., 2003; Tomany et al., 2004). И экспериментальные – исследования спектра действия фотоповреждения (см. выше), и клинические – использование интраокулярных линз (ИОЛ) без УФ-абсорбера (Kraff et al., 1985), и эпидемиологические (см. выше) данные свидетельствуют о том, что не только ультрафиолетовый, но и в значительной мере синий свет ответственны за усугубляющее действие света в патогенезе дегенерации сетчатки. Отсюда следует, что использование светофильтров, полностью отсекающих от сетчатки ультрафиолетовую и частично синюю или сине-зелёную часть спектра, может оказать существенный защитный, профилактический эффект. Именно исходя из этого нами ещё в середине 80-х годов были предложены жёлтые ИОЛ, призванные защитить сетчатку и пигментный эпителий от опасности фотоповреждения как ультрафиолетовым, так и фиолетово-синим светом. Фактически спектры пропускания этих линз имитировали спектры пропускания естественного, некатарактального хрусталика глаза человека 45–50-летнего возраста (Островский, Линник, 1987; Линник и др., 1991; Линник и др., 1992). Кроме того, такие ИОЛ повышали за счёт уменьшения хроматической аберрации контрастную чувствительность скотопического (палочкового) и фотопического (колбочкового) зрения.

Анализ результатов 17-летнего мониторинга по отдаленным клиническим последствиям имплантации наших интраокулярных линз «Спектр», проведенный за период с 1986 по 2003 годы в ГУ Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» МЗ РФ, показал, что послеоперационные осложнения – отёк сетчатки в макулярной области (синдром Ирвит–Гасса), приводящий, как правило, к потере зрения оперированного глаза, наблюдались: в раннем периоде в 0,59% случаев по сравнению с 3%, а в позднем периоде в 0,06% случаев по сравнению с 1,5% (Островский и др., 2003; Линник и др., 2004).

Наши многолетние усилия по созданию искусственного хрусталика с наиболее благоприятным, физиологически обоснованным спектром пропускания получили международное признание. Об этом, в частности, свидетельствует активное внедрение в последнее время в мировую офтальмо-

логическую практику фирмой Alcon новых жёлтых ИОЛ (AcrySof® Natural IOL), спектр пропускания которых полностью соответствует спектру пропускания наших ИОЛ «Спектр».

Поиски оптимальных спектральных характеристик ИОЛ, а также спектральных очков и контактных линз, призванных максимально уменьшить риск фотоповреждения сетчатки и при этом наилучшим образом сохранить или даже улучшить качество зрительного восприятия, продолжаются (Rosenblum et al., 2000; Mainster et al., 2003). Совсем недавно, практически одновременно и независимо, появилось три статьи, в которых подробнейшим образом рассматривается перспективность применения светофильтров, в первую очередь окрашенных ИОЛ, отсекающих от сетчатки синюю или сине-зелёную часть видимого спектра и тем самым задерживающих развитие старческой макулярной дегенерации сетчатки (Meysers, et al. 2004, Nilson, 2004, Margrain et al. 2004). В ближайшие годы во многих офтальмологических центрах будут, по всей видимости, приняты широкие клинические исследования эффективности применения такого рода светофильтров – ИОЛ и спектральных очков для замедления развития различных форм дегенерации сетчатки, в первую очередь старческой макулярной дегенерации сетчатки.

Принятые сокращения

ABCР – АТФ-связывающий кассетный переносчик ретиналя, IRBP – межфоторецепторный ретинол-связывающий белок; А2Е-РЕ – бис-ретинилиден-фосфатидилэтанолламин; А2Е – бис-ретинилиден-этанолламин.

Литература

1. Островский М.А., Говардовский В.И. Физиология зрения. // Москва: ВО «Наука». 1992. С. 5-58.
2. Овчинников Ю.А., Абдулаев Н.Г., Фейгина Н.Ю., Артамонов И.Д., Золотарев А.С. Полная аминокислотная последовательность зрительного родопсина. // Биоорган. химия. 1982. Т. 8. № 10. С.1424-1427.
3. Palczewski K., Kumasaka T., Hori T., Behnke C.A., Motoshima H., Fox B.A., Le Trong I., Teller D.C., Okada T., Stenkamp R.E., Yamamoto M., and Miyano M. Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor.// Science, 2000, 289, 739-745.

4. Liang Y, Fotiadis D, Filipek S, Saperstein DA, Palczewski K, Engel A. Organization of the G protein-coupled receptors rhodopsin and opsin in native membranes. // J Biol Chem. 2003; 278(24):21655-62.
5. T. Okada, M. Sugihara, A.-N. Bondar, M. Elstner, P. Entel and V. Buss. The retinal conformation and its environment in rhodopsin in light of a new 2.2 Å crystal structure. // J Mol Biol. 2004; 342(2): 571-83.
6. A.B. Patel, E. Crocker, M.Eilers, A. Hirshfeld, M. Sheves, and S.O. Smith. Coupling of retinal isomerization to the activation of rhodopsin. PNAS. 2004, V. 101, No. 27, 10048-10053.
7. Островский М.А., Молекулярная физиология зрения и спектральные требования к офтальмооптике. В сб.: "Клиническая физиология зрения", 1993, Изд. АО "Русомед". М., С. 27-56.
8. Островский М.А., Богословский А.И., Зуева М.В. и др. Исследование механизмов повреждающего действия видимого света на здоровую сетчатку животных. Вестник АМН СССР. 1979. Т. 12. No. 2. С.57-63.
9. Островский М.А., Федорович И.Б. Система защиты фоторецепторных клеток от повреждающего действия света.// В кн.: «Системы органов чувств. Морфофункциональные аспекты эволюции». «Наука», ЛО. 1987. С. 4-22.
10. Островский М.А., Федорович И.Б, Зак П.П., Донцов Е.А. Защита структур глаза от светового излучения и оптимизация зрительных функций. Вестник АН СССР. 1988. No. 2. С. 63-73.
11. Островский М.А., Говардовский В.И., Механизмы фоторецепции позвоночных. В кн.: «Физиология зрения». «Наука», М. 1992. Глава 1. С. 5-59.
12. Островский М.А. Молекулярная физиология зрения: системы фоторецепции и защиты от фотоповреждения. Природа, 1993, № 8, С. 23 – 36.
13. Островский М.А., Федорович И.Б. Фотосенсибилизированное окисление как механизм повреждающего действия света на сетчатку глаза. Химическая физика. 1996. Т. 15. С. 73-80.
14. Boll F., Zur Anatomie und physiologie der retina. Monatsber Akad Wissensch. Berlin. 1876. V. 23, P. 783-787.
15. Pugh E. N., Nikonov S., Lamb TB. Molecular mechanisms of vertebrate photoreceptor light adaptation Current Opinion in Neurobiology. 1999. V. 9. P. 410-418.
16. Burns M , Baylor A. Activation, Deactivation and adaptaton in vertebrate photoreceptor cells Annu. Rev. Neurosci. 2001. V. 24, P. 779-805.

17. Pugh, E.N., Nikonov, S., Lamb, T.B. Molecular mechanisms of vertebrate photoreceptor light adaptation *Current Opinion in Neurobiology*. 1999. V. 9. P. 410-418.
18. Burns, M., Baylor, A. Activation, Deactivation and adaptation in vertebrate photoreceptor cells *Annu. Rev. Neurosci.* 2001, V. 24, P. 779-805.
19. Saari, J.C. Biochemistry of visual pigment regeneration *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2001; V. 41, P. 337-348.
20. Sun, H., Molday, R.S., Nathans, J. Retinal stimulates ATP hydrolysis by purified and reconstituted ABCR, the photoreceptor-specific ATP-binding cassette transporter responsible for Stargardt disease. *J. Biol. Chem.*, 1999, V. 274, P. 8269-8281.
21. Sun, H., Nathans, J. ABCR, the ATP-binding cassette transporter for Stargardt macular dystrophy, is an efficient target of all-trans retinal-mediated photooxidative damage in vitro. *J. Biol. Chem.*, 2001, V. 276, P. 11766-11774.
22. Allikmets, R.N., Singh, N., Sun, H., et al. A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy. *Nat. Genetic*, 1997, V. 15, P. 236-245.
23. Allikmets, R.N., Shroyer, N.F., Singh, N., et al. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science*, 1997, V. 277, P. 1805-1807.
24. Fine, S.L., Berger, J.W., Maguire, M.J., et al., Age-related macular degeneration. *The New England Journal of Medicine*, 2000. V. 342, P. 483-492.
25. Suter, A., et al. Age-related macular degeneration: the lipofuscin component N-retinyl-N-retinilidene ethanolamine detaches proapoptotic proteins from mitochondria and induces apoptosis in mammalian retinal pigment epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2000. V. 275, P. 39625-39630.
26. Kremers, J.J., van Norren, D. Two classes of photochemical damage of the retina. *Lasers Light Optalmol.* 1988, V. 2, P. 41-52.
27. Островский М.А., Донцов А.Е., Сакина Н.Л., Боултон М., Джарвис-Эванс Дж. Способность липофусциновых гранул из ретиального пигментного эпителия глаза человека к фотосенсибилизированному перекисному окислению липидов при действии видимого света. Сенсорные системы. 1992. т. 6, No. 3, с. 51-54.
28. Boulton, M., Dontsov, A, Ostrovsky, M., Jarvis-Evans, J., Svistunenکو, D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J. Photochem. Photobiol.* 1993. V. 19, P. 201-204.

29. Boulton, M., Dontsov, A., Ostrovsky, M.A., Jarvis-Evans, J., Svistunenko, D. Superoxide radical generation by human RPE lipofuscin: a photoinducible effect. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1992. V. 33, № 4, P. 919.
30. Dontsov, A.E., Glickman, R.D., Ostrovsky, M.A. Retinal pigment epithelium pigment granules stimulate the photo-oxidation of unsaturated fatty acids. *Free Rad. Biol. Med.* 1999. v. 26, p. 1436-1446.
31. Wassel, J., Davis, S., Bardsley, W., Boulton, M., The photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin. *J. Biol. Chem.* 1999, V 274, P. 23828-23832.
32. Rozanowska, M., Wassel, J Boulton, M., et al. Blue light-induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media. *Free Radicals. Biol. Med.* 1998. V. 24. P. 1107-1112.
33. Ham, W.T.J., Ruffolo, J.J.J., Mueller, H.A., et al. Histological analysis of photochemical lesion produced in rhesus retina by short-wavelength light. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1978. V. 17, P. 1029-1035.
34. Sparrow, J.R., Nakanishi, K., Paris, C.A. The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000. V. 41, P. 1981-1990.
35. Sparrow, J.R., Zhou, J., Ben-Shabat, S., et al. Involvement of oxidative mechanisms in blue-light-induced damage to A2E-laden RPE. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2002. V. 43, P. 1222-1227.
36. Sparrow, J.R., Nakanishi, K., Paris, C.A. The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Res.* 2000. V. 41, P. 1981-1990.
37. Ben-Shabat, S., Itagaki, Y., Jockusch, S. et al. Formation of a nonaoxirane from A2E, a lipofuscin fluorophore related to macular degeneration, and evidence of singlet oxygen involvement. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, V. 41 No 5. P. 814-817.
38. Сапезинский И.И. Биополимеры: кинетика радиационных и фотохимических превращений. 1988. М., «Наука».
39. Погожева И.Д., Федорович И.Б., Островский М.А., Эмануэль Н.М. Фотоповреждение молекулы родопсина. Окисление SH-групп. Биофизика. 1981. Т. 26, С. 398-403.
40. Погожева И.Д., Кузнецов В.А., Лившиц В.А., Федорович И.Б. Островский М.А. Обратимая зависимость от pH агрегация молекул родопсина в фоторецепторных мембранах. Докл. АН СССР. 1981. т. 260, с. 1254-1258.

41. Погожева И.Д., Кузнецов В.А., Федорович И.Б., Лившиц В.А., Ма-ношкина Н.М., Островский М.А. Агрегация молекул родопсина при повреждающем действии света на фоторецепторные мембраны. *Биофизика*. 1981. т. 26, с. 692-700.
42. Островский М.А., Федорович И.Б. Механизм повреждающего дейст-вия света на фоторецепторы сетчатки глаза. *Физиология человека*. 1982. т. 8, с. 572-577.
43. Островский М.А., Федорович И.Б. Ретиналь как сенсibilизатор фо-топовреждения ретинальсодержащих белков сетчатки глаза. *Биофи-зика*. 1994. т. 39, с. 13-25.
44. Островский М.А., Федорович И.Б. Фотосенсibilизированное окис-ление как механизм повреждающего действия света на сетчатку гла-за. *Химическая физика*. 1996. т. 15, с. 73-80.
45. Пирузян Л.А. Островский М.А., Ландау М.А. О “сенсорной” безо-пасности лекарств: фотосенсibilизированное повреждение структур глаза. *Известия АН СССР*. 1991. № 1, с. 43-50.
46. Федорович И. Б., Зак П.П., Островский М.А. Повышенное УФ-пропускание хрусталика глаза в раннем детстве и его возрастное по-желтение. *Докл. РАН*. 1994. т. 336, с. 835-837.
47. Старостин А.В., Федорович И.Б., Островский М.А. Сенсibilизиро-ванное ретиналем фотоокисление родопсина. *Биофизика*. 1985. т. 30, с. 995-999.
48. Капуста Н.В, Зак П.П., Федорович И.Б., Островский М.А., Скалацкий О.Н. Усугубляющее действие кислорода при фотоповреждении сет-чатки глаза белой крысы. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 1987. No. 7, с. 102-104.
49. Fedorovich, I.B., Semenova, E.M., Grant, K., Converse, C.A., Ostrovsky, M.A. Photosensitized light-induced damage of IRBP (interphotoreceptor retinoid-binding protein): Effects on binding properties. *Current Eye Research*. 2000. v. 21, p. 975-980.
50. Деревянченко Т.Г., Федорович И.Б., Островский М.А. Распределение сульфгидрильных групп вдоль оси наружного сегмента палочки сет-чатки лягушки. *Цитология*. 1985. т. 27, с. 1197-1199.
51. Островский М.А.,.. Донцов А.Е. Пигментный эпителий. (Морфологи-ческие особенности). В кн.: «Итоги науки и техники». Серия «Фи-зиология человека и животных». ВИНТИ, М. 1984. Т. 28. С. 127-176.
52. Young, R.W. Biogenesis and renewal of visual cell outer segment membranes. *Exp. Eye Res.* 1974, V 18, P. 312-223.

53. Островский М.А., Донцов А.Е., Сакина Н.Л. Антиокислительная функция экранирующих пигментов глаза. Докл. АН СССР. 1980. Т. 255. No. 3. С. 748-752.
54. Донцов А.Е., Островский М.А., Сакина Н.Л. Сравнительное исследование перекисного окисления липидов в пигментном эпителии глаза пигментированных животных и альбиносов. Биохимия. 1980. Т. 45. No. 5. С. 923-928.
55. Островский М.А., Донцов А.Е. Физиологические функции меланина в организме. Физиология человека. 1985. Т. 11. No. 4. С. 670-678.
56. Островский М.А., Федорович И.Б., Донцов А.Е. Фотоокислительные процессы в структурах глаза. Защитная функция хрусталика и экранирующих пигментов. Биофизика. 1987. Т. 32. No. 5. С. 896-909.
57. Ostrovsky, M.A., Sakina, N.L., Dontsov, A.E. An antioxidative role of ocular screening pigments. Vision Res. 1987. V. 27. No. 6. P. 893-899.
58. Федорович И.Б., Зак П.П., Островский М.А. Повышенное УФ-пропускание хрусталика глаза в раннем детстве и его возрастное пожелтение. Докл. РАН. 1994. т. 336, с. 835-837.
59. Островский М.А., Линник Л.Ф. Новый хрусталик: и линза, и светофильтр. Журнал «Здоровье», 1987. № 11, С. 5-6.
60. Линник Л.Ф., Островский М.А., Зак П.П., Федорович И.Б., Салиев И.М., Шимшилашвили Г.Д. Анализ отдаленных клинико-функциональных результатов имплантации интраокулярной линзы "Спектр". Офтальмохирургия. 1992. № 1, с. 40-44.
61. Линник Л.Ф., Островский М.А., Салиев И.М. Искусственные хрусталики, поглощающие ультрафиолетовые лучи: безопасность, эффективность и перспектива использования в офтальмохирургии. Офтальмохирургия. 1991. №. 4, с. 3-7.
62. Розенблум Ю.З., Зак П.П., Островский М.А. и др. Спектральные фильтры как вид лечебной коррекции зрения. Вестник офтальмологии. 1995. No. 3. С. 24-26.
63. Rosenblum, Y.Z., Zak, P.P., Ostrovsky, M.A., et al., Clinical research note spectral filters in low-vision correction. J. Ophthal. Physiol. Opt. 2000. V. 20. No. 4. P. 335-341.
64. Островский М.А., Федорович И.Б., Ельчанинов В.В., Кривандин А.В. Опасность повреждающего действия света на структуры глаза. Хрусталик - как естественный светофильтр и объект фотоповреждения. Сенсорные системы. 1994. Т. 8. No. 3-4. С. 135-146.
65. McCarty, C.A., Taylor, H.R., Recent development in vision research: light damage in cataract Invest. Ophthal. Vis. Sci., 1996, V. 37. P. 1720-1723.

66. West, S.K., Duncan, D.D., Munoz, B., et al. Sunlight exposure and risk of lens opacities in a population-based study. *JAMA* 1998; V. 280, P. 714-718.
67. Delcourt, C., Carrier, I., Ponton-Sanchez, A., et al. Light exposure and the risk of cortical, nuclear and posterior subcapsular cataracts. *Arch. Ophthalmol.*, 2000, V. 118, P. 385-392.
68. Zigman, S., Environmental near-UV radiation and cataracts. *Optomet. Vis. Sci.*, 1995, V 72, p. 899-901.
69. Sliney, D. H. Estimating the solar ultraviolet radiation exposure to an intraocular lens implant. *J. Cataract Refract. Surg.*, 1987, V. 13, P. 296-301.
70. Корхмазян М.М., Федорович И.Б., Островский М.А. Механизмы фотоповреждения структур глаза. Действие УФ-света на растворимые белки хрусталика. *Биофизика*. 1983. Т. 28. No. 6. С. 966-971.
71. Кривандин А. В., Львов Ю.М., Островский М.А. и др. Структурные исследования кристаллинов в нормальном и катарактальном хрусталике методом дифракции рентгеновских лучей. *Офтальмологический журнал*. 1989. No. 6. С. 365-366.
72. Krivandin, A.V., L'vov, Yu.M., Ostrovsky, M.A., et al. Structural conversions of crystallins under senile cataract, dehydration and UV-irradiation studied by X-ray diffraction. *Exp. Eye Res.* 1989. V. 49. P. 853-859.
73. Dillon, J., Roy, D., Spector, A., et al. UV laser photodamage to whole lenses. *Exp. Eye Res.*, 1989, V. 49, P. 959-966
74. Ostrovsky, M.A., Sergeev, Y. V., Atkinson, D.B., et al. Comparison of ultraviolet induced photo-kinetics for lens-derived and recombinant β L-crystallins . *Molecular Vision*, 2002; V8: <<http://www.molvis.org/molvis/v8/a10/>>
75. Dillon, J., Zveng, L., Merriam, J., et al. The optical properties of the anterior segment of the eye: implications for cortical cataract. *Exp. Eye Res.*, 1999, V. 68, P. 785-795.
76. van Heyningen, R. Fluorescent glucoside in the human lens. *Nature*, 1971, V 230, P. 393-394.
77. Takikawa, O., Tamantha, K., Littlejohn, T.K., Truscott, R.J.W. Indoleamine 2,3-dioxygenase in the human lens, the first enzyme in the synthesis of UV filters. *Exp. Eye Res.*, 2001, V. 72, P. 271-277
78. Bova, L.M., Sweeney, M.H., Jamie, J.F., et al. Major changes in ocular UV protection with age. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001, V. 42, P. 200-205.

79. Yu, N.N., Barron, B.C., Kuck, J.F.R. Distribution of two metabolically related fluorophores in human lens. *Exp. Eye Res.*, 1989, V. 49, P. 189-194.
80. Gaillard, E.R., Zheng, L., Merriam, J.C., et al. Age-related changes in the absorption characteristics of the primate lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000, V. 41, P. 1454-1459.
81. Ortwerth, B.J., Chemoganskiy, V., Olesen, P.R. Studies of singlet oxygen formation and UVA light-mediated photobleaching of the yellow chromophores in human lenses. *Exp. Eye Res.*, 2002, V. 74, P. 217-229.
82. Kwan, M., Niinikoski, J., Hunt, T.K. In vivo measurements of oxygen. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1972, V. 11, P. 108-114.
83. Федорович И.Б., Ельчанинов В.В. Механизмы фотоповреждения структур глаза. Образование агрегатов полипептидов при УФ-облучении белков хрусталика. *Биофизика*, 1989, Т. 34, С. 758-762.
84. Федорович И.Б., Ельчанинов В.В. Механизмы фотоповреждения структур глаза. Изменение зарядов кристаллинов хрусталика при УФ-облучении. *Биофизика*, 1990а, Т. 35, С. 200-204.
85. Федорович И.Б., Ельчанинов В.В. Механизмы фотоповреждения структур глаза. Изменение реакционной способности SH-групп белков хрусталика глаза. *Биохимия*, 1990б, Т. 55, С. 1304-1307.
86. Hejtmancik, J.F. The genetics of cataract: our vision becomes clearer. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, V. 62. P. 520-525.
87. Bloemendal, H. Lens Proteins. In: Bloemendal H, editor. *Molecular and cellular biology of the eye lens*. New York: Wiley; 1981. P. 1-47.
88. Dubin, R.A., Wawrousek, E.F., Piatigorsky, J. Expression of the murine alpha B-crystallin gene is not restricted to the lens. *Mol Cell Biol* 1989; V. 9. P. 1083-1097.
89. Dasgupta, S., Hohman, T.C., Carper, D. Hypertonic stress induces alpha B-crystallin expression. *Exp Eye Res* 1992, V. 54. P. 461-470.
90. de Jong, W.W., Hendriks, W., Mulders, J.W., Bloemendal, H. Evolution of eye lens crystallins: the stress connection. *Trends Biochem Sci.* 1989, V. 14. P. 365-368.
91. Horwitz, J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992. V. 89. P. 10449-10453.
92. Rao, P.S., Huang, Q., Horwitz, J., Zigler, J.S. Evidence that α -crystallin prevents non-specific protein aggregation in the intact eye lens. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1995, V 1245, P. 439-447.

93. Borkman, R.F., Knight, G., Obi, B. The molecular chaperone alpha-crystallin inhibits UV-induced protein aggregation. *Exp. Eye. Res.*, 1996, V. 62. P. 141-148.
94. Liu R. S., Colmenares L.U. The molecular basis for the high photosensitivity of rhodopsin. *PNAS* 2003 V100 No 25 pp 14639-14644
95. Kholmurodov K.T., Feldman T.B., Ostrovsky M.A.. Molecular dynamics simulation and experimental studies on the visual pigment rhodopsin: multiple conformational states and structural changes. 2005 Nova Publishers (NY). (in press.)
96. Sparrow JR, Zhou J, Cai B. DNA is a target of the photodynamic effects elicited in A2E-laden RPE by blue-light illumination. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 44(5):2245-2251.
97. Pawlak A, Rozanowska M, Zareba M, et al. Action spectra for the photoconsumption of oxygen by human ocular liofusicin and lipofusicin extracts. *Arch. Biochem. Biophys.* 2002; 403: 59-62.
98. Holz FG, Bellman C, Staudt S, et al., Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(5):1051-1056.
99. Taylor HR, Munoz B, West S, et al. The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol* 1992;110:99-104.
100. Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BEK. Sunlight and age-related macular degeneration: The Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol* 1993;111:514-518.
101. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, et al. The relationship of ocular factors to the incidence and progression of age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1998;116:506-513.
102. Wang JJ, Klein R, Smith W et al. Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy: Pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains Eye Studies. *Ophthalmol* 2003;110:1960-1967.
103. [Tomany SC, Cruickshanks KJ, Klein et al., Sunlight and the 10-year incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 2004 122(5):750-757.
104. Kraff MC, Sanders DR, Jampol LM, Lieberman HL. Effect of an ultraviolet-filtering intraocular lens on cystoid macular edema. *Ophthalmology.* 1985, 92(3):366-369.
105. Островский М.А., Линник Л.Ф. Новый хрусталик: и линза, и светофильтр. //Журнал «Здоровье». 1987. No.11. С.5-6.

108. Линник Л.Ф., Островский М.А., Салиев И.М. Искусственные хрусталики, поглощающие ультрафиолетовые лучи: безопасность, эффективность и перспектива использования в офтальмохирургии. //Офтальмохирургия. 1991. No.4. С.3-7.
109. Искусственный хрусталик глаза. Авторская заявка на изобретение No.4091431/28-14 от 17.11.1987;
110. USA Patent and Trade Mark Office on the claim for No.07/671716 from 18th October 1991.
111. Линник Л.Ф., Островский М.А., Зак П.П., Федорович И.Б., Салиев И.М., Шимшилашвили Г.Д. Анализ отдаленных клинико-функциональных результатов имплантации интраокулярной линзы «Спектр». //Офтальмохирургия. 1992. No.1. С.40-44.
112. Островский М.А., Линник Л.Ф., Зак П.П. Молекулярные механизмы повреждающего воздействия синего света на сетчатку и 17-летний опыт применения желтых интраокулярных линз (ИОЛ «Спектр»).//В кн.: Тезисы докладов Юбилейного симпозиума «Актуальные проблемы офтальмологии». Москва, 26-27 сентября 2003 года. С. 397.
113. Линник Л.Ф., Тахчиди Х. П., Островский М.А., Зак П.П. Разработка и внедрение в практику искусственных хрусталиков глаза с естественной спектральной характеристикой. Здравоохранение и медицинская техника 2004. № 5 (9) С.35-36
114. Rosenblum Y.Z., Zak P.P., Ostrovsky M.A. et al., Spectral filters in low-vision correction. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2000. 20:335-341.
115. Mainster MA, Sparrow JR. How much blue light should an IOL transmit? *Br. J. Ophthalmol.* 2003; 87:1523-1529.
116. Meyers S.M., Ostrovsky M.A, Bonner R.F. A Model of Spectral Filtering to Reduce Photochemical Damage in Age-Related Macular Degeneration. *Trans. Am Ophthalmol Soc* 2004; 102: 83-95
117. Nilson SE Are there advantages in implanting a yellow IOL to reduce the risk of AMG? *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 2004,82:123-125.
118. Margrain TH, Boulton M, Marshall J, Sliney DH. Do blue light filters confer protection against age-related macular degeneration? *Prog Retina Eye Res.* 2004, 23(5):523-531.