

МЕХАНИЗМЫ ЗРЕНИЯ: НАУКА И ЖИЗНЬ

Академик Михаил ОСТРОВСКИЙ,
Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН.

Неисповедимы пути от науки к жизни. Наука — часть культуры, и чистое знание, как классическая музыка или высокая поэзия, имеет свою непреходящую ценность. Как правило, «чистое знание» в конце концов находит применение в жизни — счастье, если во благо, а не во зло.

Примеров успешного пути от науки к жизни великое множество. Мой частный случай — наука о зрении. Речь пойдёт о новых, «чистых» знаниях о молекулярных механизмах зрения и о некоторых новых, весьма возможных медицинских приложениях.

Пурпур! Цвет величественный и торжественный, цвет восхода Солнца и кардинальских мантий. Великий Гомер навеки воспел богиню пурпурной зари — прекрасную Эос. Говорят, пурпур открыли финикийцы. За 1600 лет до н. э. в Древ-

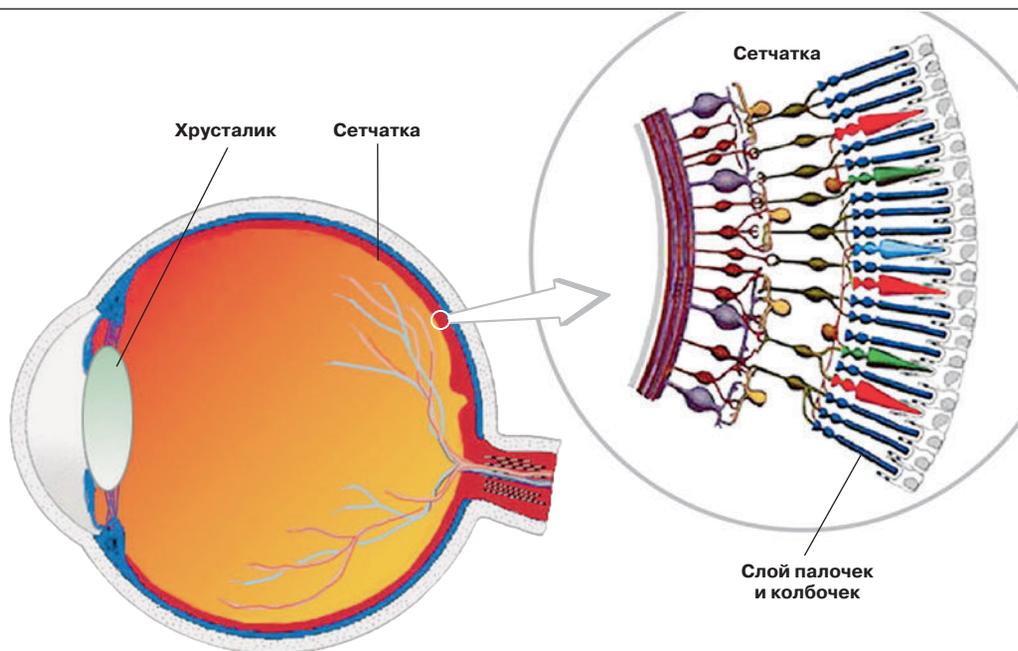
нем Египте и на острове Крит пурпуром окрашивали одежды. В Древней Ассирии и роскошной Византии пурпур был символом силы и знатности. Римляне награждали победителя пурпурной лентой, и лишь император облачался в пурпурную тогу. А мореплаватели и купцы платили жизнью, добывая в далёких экзотических странах из пурпурных моллюсков царственную краску. Но древние не подозревали главного: пурпур — это цвет зрения, цвет того уникального вещества, которое дарует нам способность видеть мир, нас окружающий, видеть Солнце.

История открытия этого вещества начиналась в 1851 году, когда немецкий физиолог Генрих Мюллер извлёк из лягушачьего глаза сетчатку и... взглянул на неё. Она оказалась розовато-пурпурной. Но Генрих Мюллер ошибочно подумал, что это цвет крови. И потому его любопытное наблюдение не привлекло особого внимания учёного мира. Лишь четверть века спустя австриец Ференц Болль повторил этот элементарный опыт. В статье 1876 года, с которой всё началось, он, во-первых, описал, как вытащенная из глаза лягушки розовая сетчатка на свету выцветает, становится белёсой, а, во-вторых, предположил, что это выцветание как-то непосредственно связано с процессом зрения. Ференц Болль дал веществу название *Sehestoff* — «зрительное вещество». Через два года на это сообщение откликнулся в Германии Вильгельм Кюне. Кюне и его команда экспериментировали многие годы. До сих пор на их работы ссылаются физиологи и биохимики. Не-



Источник: Wikimedia Commons/PD

Эвелин де Морган. Эос. 1895 год. Колумбийский художественный музей. Колумбия, Южная Каролина, США.



Дно глазного бокала выстилает сетчатка – истинный орган зрения. Сетчатка состоит из нескольких слоёв клеток. Клетки связаны между собой синаптическими контактами, через которые передаётся и обрабатывается информация. Обработанная информация по примерно 1 миллиону 200 тысячам волокон зрительного нерва передаётся в мозг. В мозге происходит её дальнейшая сложнейшая обработка, в результате чего возникает субъективный зрительный образ объективного внешнего мира. Зрительный акт начинается в зрительных клетках сетчатки – палочках и колбочках, точнее в светочувствительных наружных сегментах этих клеток.

известно, думал ли Вильгельм Кюне о символическом смысле пурпурного цвета, но именно он дал светочувствительному веществу сетчатки звучное и торжественное название *Sehpurpur* — зрительный пурпур!

С середины 30-х годов прошлого века Джордж Уолд, его жена Руфь Хаббард и их сотрудники в Гарвардском университете активно занялись зрительным пурпуром. Вот главное, что они сделали. Во-первых, они выяснили, что молекула этого вещества состоит из двух частей — белка и химически (ковалентно) связанного с ним ретиналя, который является альдегидом витамина А. Как теперь стало ясно, зрительный пурпур — это самый яркий представитель большого семейства ре-

тинальсодержащих белков. Именно ретиналь придаёт молекуле зрения пурпурный цвет. Причём ретиналь в зрительном пурпуре находится только в одной изомерной форме из шестнадцати возможных и ни в какой другой. Попросту говоря, он особым образом изогнут — как кочерга. И именно в этой изогнутой форме ретиналь, как ключик в замок, способен войти в белок и с ним соединиться.

А во-вторых, Уолд и сотрудники выяснили, пожалуй, главное — с чего начинается зрение, поняли — зачем, собственно говоря, для зрения нужен свет. Оказалось, что единственное, зачем нужен свет, — это чтобы выпрямить «кочергу», изогнутый ретиналь. Именно выпрямление ретиналя при поглощении кванта света молекулой

зрительного пурпура и запускает зрительный акт.

Дальше свет не нужен. Все последующие, многочисленные и сложнейшие процессы зрения происходят уже в темноте, в свете они не нуждаются. В 1967 году Джордж Уолд с формулировкой «за исследования в области физиологии и биохимии зрения», то есть за «чистое знание» о природе зрения, получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине. Уже во времена Уолда красивое название «зрительный пурпур» поменяли на строго научное — родопсин. Слово это происходит от двух греческих слов: «*rhodo*» — розовый и «*opsis*» — видеть.

Выпрямление ретиналя при поглощении кванта света, или, по-научному, реакция фотоизомеризации стала в последние десятилетия «горячей точкой» не только для понимания глубинных механизмов зрения, но и всей фотохимии. С появлением новых лазерных технологий, позволяющих создавать сверх-, суперкороткие световые вспышки, выяснилась потрясающая вещь, о которой Джордж Уолд и помыслить не мог.

Оказалось, что фотоизомеризация (выпрямление) внутри белковой части молекулы родопсина изогнутого ретиналя совершается в немыслимо короткое время — всего за 50—70 фемтосекунд. Примем во внимание, что одна фемтосекунда — это одна квадриллионная доля секунды, или 10^{-15} доли секунды. Это самая быстрая из известных в настоящее время реакций в фотохимии вообще. Почему именно она такая быстрая и эффективная, пытается выяснить современная наука.

Что же по этому поводу поняли мы — биологи, работая совместно с классными физиками Института химической физики им. Н. Н. Семёнова? Если коротко — мы поняли, насколько же хорошо приспособлена эта реакция в зрительном родопсине для запуска зрительного акта. Мы это поняли, сравнивая сверхбыструю фотохимическую реакцию фотоизомеризации изогнутого ретиналя у двух родопсинов — микробияльного и зрительного.

Дело в том, что у бактерий, как оказалось, тоже есть родопсин, то есть светочувствительный белок, содержащий

ретиналь. Сам факт существования такого родопсина — бактериородопсина был установлен почти столетие спустя после открытия Ференцем Боллем «зрительного вещества». Статья 1971 года американского биохимика Уолтера Стокениуса и его в то время аспиранта из Германии Дитера Остерхельда о бактериородопсине стала, можно сказать, сенсацией.

Так вот, бактериальный родопсин — один из самых древних белков биосферы Земли, он возник около двух с половиной или трёх миллиардов лет назад, и его основная функция — это древний, примитивный фотосинтез. А зрительный родопсин — эволюционно сравнительно «молодой» светочувствительный белок, он возник «всего лишь» около миллиарда лет назад, хотя среди белков животного происхождения он один из самых старых.

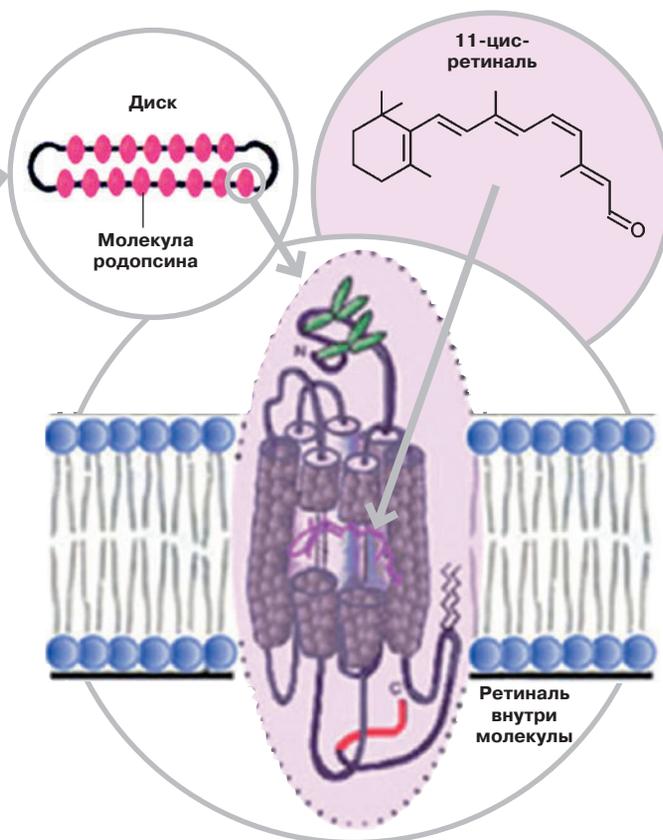
Сравнивая у двух родопсинов — микробияльного и зрительного — сверхбыструю фотохимическую реакцию, а именно её скорость и эффективность (квантовый выход), мы обнаружили, что эволюционно «молодой» зрительный родопсин гораздо лучше приспособлен для зрения, он результативнее и надёжнее, чем если бы это был «древний» бактериальный родопсин. Об этом, и не только, конечно, об этом, наши статьи последнего времени и блестяще защищённая в середине марта этого года кандидатская диссертация молодой сотрудницы нашей лаборатории под сугубо научным, «скучным» названием: «Фотохромные реакции ретинальсодержащих белков — зрительного родопсина и бактериородопсина — в фемто- и пикосекундном диапазоне времён».

Итак, в ходе очень и очень длительной эволюции сформировался светочувствительный белок, можно сказать, идеальный для выполнения его основной физиологической функции — запуска акта зрения. А о важности зрения для любого живого организма — от самого примитивного до человека — и говорить нечего! Дойдёт ли это «чистое знание» до жизни, сказать трудно, да это и необязательно. Оно само по себе ценно и интересно.

Теперь о наших тоже вполне фундаментальных исследованиях, но сильно ориентированных на возможные меди-



Наружный сегмент палочки, содержащий множество дисков

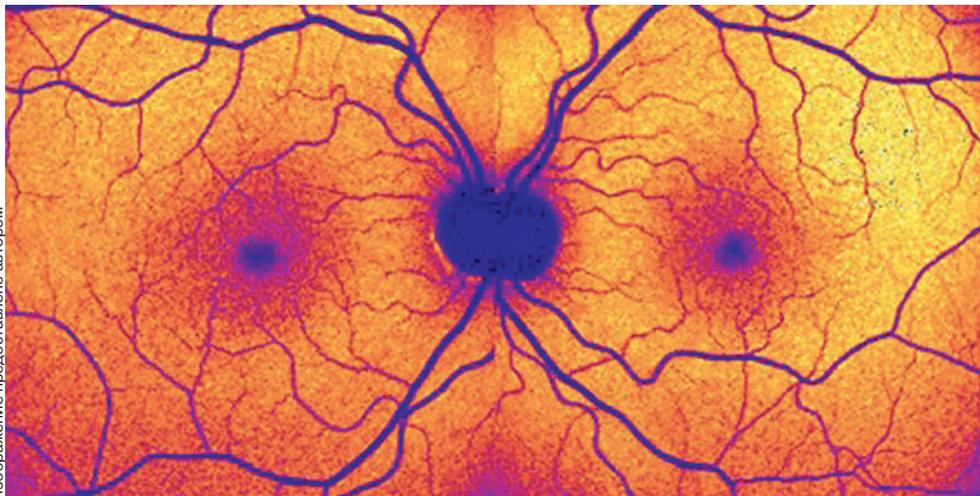


Наружный сегмент зрительных клеток, в данном случае палочки, состоит из многих сотен «наложенных» друг на друга дисков. В мембранах каждого диска находятся (как бы «вставлены») молекулы светочувствительного белка – родопсина (зрительного пурпура). Расстояние между молекулами родопсина предельно маленькое. Других белков в мембранах диска практически нет. Каждая молекула родопсина представляет собой длинную полипептидную цепь, которая, изгибаясь, семь раз пронизывает насквозь мембрану диска (это белковая часть молекулы). Внутри белковой части, в её сердцевине располагается маленькая, изогнутая как кочерга, молекула ретиналя (альдегида витамина А), химически прочно (ковалентно) связанная с седьмым тяжом полипептидной цепи. Благодаря взаимодействию ретиналя с его белковым окружением молекула родопсина приобретает пурпурный цвет. Поглощение кванта света изогнутым ретиалем приводит к его мгновенному (за 50—100 фемтосекунд; 1 фемтосекунда = 10^{-15} секунды) выпрямлению. Именно выпрямление ретиналя внутри молекулы родопсина и запускает зрительный акт.

цинские приложения. Речь опять идёт о родопсине, но не о его самых начальных, сверхбыстрых фотохимических реакциях, а, наоборот, о самых последних, медленных и чреватых серьёзными осложнениями в случае патологии процессах.

Всё дело в том, что родопсин — это молекула однократного действия. После

поглощения кванта света и запуска зрительного акта она разваливается: её белковая часть остаётся в зрительной клетке, в её так называемом наружном сегменте, а вот ретиаль от белка отваливается. Молекул родопсина в каждой зрительной клетке очень много — порядка 10^9 , и лишь ничтожная часть из этого множества



Аутофлуоресценция глазного дна правого и левого глаза здорового человека среднего возраста (цвет аутофлуоресценции модифицирован для наглядности).

поглощает свет и запускает зрительный процесс. Поэтому для зрения оставшихся, неразвалившихся молекул зрительной клетке вполне достаточно.

Отвалившийся же и, не дай бог, накопившийся в клетке ретиналь опасен, фототоксичен. Более того, сама та светочувствительная часть зрительной клетки, содержащая родопсин, постоянно обновляется. Обновление происходит за несколько недель. Верхушка зрительной клетки по кусочкам обламывается, а снизу эта часть клетки нарастает, заново синтезируется. Обломки верхушки поглощаются — фагоцитируются тесно прилегающими к зрительным клеткам сетчатки клетками так называемого пигментного эпителия.

К несчастью (такова несовершенная биология!), обломки эти в клетках пигментного эпителия недоперевариваются и с возрастом накапливаются. В результате они превращаются в так называемый пигмент старости. К возрасту 80—90 лет он может занимать до 20% объёма всей клетки. Это очень много. До нас, до наших работ 1992—1993 годов, считалось, что «пигмент старости» (по-научному он называется липофусцин) — это инертный шлак. Мы показали, что он вовсе не шлак, он фоточувствителен и фототоксичен.

Это «чистое знание» было очень быстро осознано офтальмологами.

Одним из практических следствий стало использование желтоватых искусственных хрусталиков — интраокулярных линз, которые имплантируются в глаза пациента после удаления катарактального хрусталика. Дело в том, что липофусцин хорошо поглощает фиолетово-синюю часть видимого спектра, а желтоватые линзы частично её отсекают, тем самым защищая сетчатку от опасности фотоповреждения.

Окрашенные интраокулярные линзы мы создали ещё в середине 1980-х годов. Офтальмологи — С. Н. Фёдоров и Л. Ф. Линник в МНТК «Микрохирургия глаза» впервые широко использовали их в клинической практике. Много позже американская фирма «Алкон» стала производить и распространять по всему миру интраокулярные линзы с точно такой же окраской, но они были мягкие, в отличие от наших жёстких. Для пожилых пациентов или пациентов с патологией сетчатки, у которых удалили катаракту и у которых «пигмент старости» накапливается в довольно больших количествах, желтоватые интраокулярные линзы для защиты сетчатки особенно важны.

В последние годы, продолжая изучать «пигмент старости», мы пришли к выводу, что раннюю неинвазивную диагностику целого ряда заболеваний сетчатки можно существенным образом усовершенствовать. Опять-таки, это были — и сейчас про-

должаются — сугубо фундаментальные исследования, но в данном случае путь от науки к жизни оказался очень коротким.

Суть того, что мы получили (и опубликовали в ведущих международных и российских научных журналах), состоит в следующем. Выяснилось, что и при действии света на липофусцин, и при патологии, в частности при таком старческом биче человечества, как возрастная макулярная дегенерация сетчатки, спектр флуоресценции этого вещества смещается в синюю область.

Тот факт, что «пигмент старости» способен флуоресцировать, известен довольно давно. На этом основан неинвазивный диагностический метод аутофлуоресценции глазного дна. Метод этот получил в офтальмологии в последние годы довольно широкое распространение. Правда, прибор, который позволяет регистрировать аутофлуоресценцию глазного дна — конфокальный сканирующий лазерный офтальмоскоп, — очень дорогой, и не каждой клинике он доступен. Прибор позволяет определить место и интенсивность флуоресценции на глазном дне.

Из результатов наших исследований ясно, что нужен прибор, который способен определить не только, где именно и как сильно флуоресцирует «пигмент старости», но и как изменилась сама эта флуоресценция. Иными словами, нужно зарегистрировать сдвиг максимума спектра флуоресценции, ибо он свидетельствует об уже начавшейся патологии. Это и есть ранняя диагностика, которую мы

предлагаем. Дело за малым — создать заново такой прибор или переделать какой-то из уже существующих. Пока за эту задачу никто не взялся.

В самое последнее время мы обнаружили ещё одну удивительную и довольно неожиданную для нас вещь. Оказалось, что похожий сдвиг максимума спектра флуоресценции «пигмента старости» наблюдается в глазах мышей, подвергнутых радиационному воздействию. Наша статья об этом только что опубликована в престижном радиобиологическом журнале «**Radiation Research**». **Связь** этого спектрального сдвига с радиацией означает, что, измеряя силу и качество аутофлуоресценции глазного дна, можно не только уловить самое начало заболевания сетчатки глаза, но, в принципе, можно понять, насколько большую дозу радиации получил организм в целом, если в глазу изменился спектр флуоресценции «пигмента старости». Получается как бы «дозиметр в глазу». Работы наши в этом направлении активно продолжаются.

Важно понимать, что фундаментальная наука, «чистое знание», «удовлетворение любопытства» (не столь важно, за чей счёт) ценны сами по себе, а приложения, их выход в жизнь состоятся при малейшей возможности такого выхода. Даже если очень захотеть этот выход остановить или задержать — опыт показал, что это просто невозможно.

Подготовила Наталия ЛЕСКОВА.



Филиппино Липпи. Фрагмент настенной росписи капеллы Бранкаччи в церкви Санта-Мария-дель-Кармина во Флоренции. Конец XV века.