

# NEW MODEL TO DESCRIBE THE EARLY STEPS OF PHOTOTRANSDUCTION.

Ezequiel M. Salido<sup>1</sup>, Leonardo N. Servalli<sup>1</sup>, Juan C. Gómez<sup>1,2</sup> and Claudio A. Verraastro<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inteligencia Artificial y Robótica (GIAR), UTN FRBA, Buenos Aires, Rep. Argentina

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), Buenos Aires, Rep. Argentina

<sup>3</sup> Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Buenos Aires, Rep. Argentina

**Abstract—** Phototransduction classical models do not contemplate the reduction of available rhodopsin when it is activated by light and consequently the absorptance variation of the outer segment in different brightness conditions. The optical Beer-Lambert law describes the relationship between the light that a medium absorbs and this medium absorptance; this paper implements this concept and the bleaching phenomenon in equations that admit as input photons per second and resolve in active rhodopsins per second. This work compares the responses in active rhodopsins between a classical model of phototransduction (Forti et al., 1989) and the new proposed model. In the equations of Forti the amount of activated rhodopsin vs. light stimulus shows a linear relation while the new model saturates exponentially. This new model describes the early events involved in phototransduction, extends the light dynamical gain and enables a simple way to implement it in different types and species of photoreceptors.

**Keywords—** Photoreceptor, absorptance, phototransduction, model, simulation.

## I. INTRODUCCIÓN

La fototransducción es un proceso que se desarrolla en el segmento externo de los fotorreceptores de la retina de los vertebrados en el cual se transforma un estímulo de luz en una señal eléctrica. Los eventos moleculares que articulan esta transformación constituyen una de las secuencias bioquímicas mejor comprendidas en la neurociencia. El primero en desarrollar un modelo empírico capaz de simular el proceso de fototransducción fue Forti y col en 1989 [1] para el fotorreceptor bastón del tritón crestado. Este modelo fue luego enriquecido por diferentes grupos de trabajo que permitieron obtener modelos matemáticos con alto grado de precisión y detalle [2,3,4,5,6,7,8].

Dentro del segmento externo del fotorreceptor se encuentra la rodopsina, que es la molécula que absorbe la energía del fotón y es el primer eslabón en la cadena de eventos bioquímicos de la fototransducción. Esta característica la hizo una de las moléculas más estudiadas hasta la fecha [9].

Cuando la rodopsina absorbe la energía de un fotón modifica su estructura morfológica en un proceso denominado fotoisomerización, que desencadena la activación de moléculas de transducina, las cuales activan otras moléculas generando un efecto cascada que desencadena una modulación de la corriente (comúnmente denominada fotocorriente) que fluye a través de canales sensibles a la luz ubicados en la membrana plasmática del segmento externo. La rodopsina activada decae rápidamente a un estado inactivo en el cual no puede activar transducina y tampoco puede ser activada nuevamente hasta entrar en un ciclo regenerativo compuesto por modificaciones moleculares sucesivas denominadas bleaching [10]. Este proceso de desactivación reduce la concentración de rodopsina activable en el segmento externo del fotorreceptor, disminuyendo la absorptancia del fotorreceptor y provocando una disminución de su ganancia.

Algunas características conservadas en los modelos posteriores al de Forti son la entrada al modelo en fotoisomerizaciones por segundo (omitiendo el proceso biofísico de fotoisomerización de rodopsina mediante la absorción de luz) y un proceso de regeneración de rodopsina inactiva que contempla una cantidad infinita de rodopsina en el segmento externo del fotorreceptor. Esto llevó a Forti a la aplicación de ecuaciones empíricas en el principio de la cadena de eventos que no describen los procesos bioquímicos involucrados en la fototransducción [3,11,12] y genera respuestas diferentes de las esperadas en un fotorreceptor biológico, principalmente cuando es adaptado a una luz de fondo o es estimulado con luz de alto brillo [13]. Es importante aclarar que al momento de construir el modelo de Forti (1989) la información sobre las primeras etapas del proceso de fototransducción eran escasas [14].

En base a estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo matemático basado en los procesos biofísicos existentes en la fototransducción que describa el mecanismo de activación de una cantidad finita de rodopsina y la variación de la absorptancia del fotorreceptor, así como la implementación de un modelo matemático de la regeneración de rodopsina mediante el ciclo de bleaching [15]. El nuevo modelo propuesto en este trabajo que denominaremos EForti

(Enhanced Forti) permite extender el rango de operación a intensidades lumínicas de mediano y alto nivel de brillo en los cuales el modelo empírico de Forti no responde adecuadamente, y permite su utilización en fotorreceptores como o bastón de la retina de cualquier especie de vertebrado debido a que todas las constantes del modelo EForti se pueden obtener de mediciones precisas realizadas en fotorreceptores.

## II. DESARROLLO

### A. Descripción del Modelo de Forti

El trabajo de Forti describe con detalle el proceso de fototransducción desde las fotoisomerizaciones por segundo ( $J_{hv}$ ) hasta la fotocorriente ( $J$ ), esta sección describe las ecuaciones involucradas desde el comienzo del estímulo hasta la obtención de rodopsinas activadas.

$$\frac{\partial R^*}{\partial t} = J_{hv}(t) - \alpha_1 R^* + \alpha_2 B \quad (1)$$

$$\frac{\partial B}{\partial t} = \alpha_1 R^* - (\alpha_2 + \alpha_3) B \quad (2)$$

Donde  $R^*$  y  $B$  son las concentraciones de rodopsina activa e inactiva respectivamente,  $J_{hv}(t)$  es el flujo de fotoisomerizaciones. Las constantes  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\alpha_3$  son las velocidades de: inactivación de  $R^*$ ; recuperación de  $R$  activable y de decaimiento de rodopsina inactiva respectivamente.

### B. Construcción del modelo matemático EForti de la dinámica de la rodopsina.

La ley de Beer-Lambert describe la relación entre la luz que se absorbe en un determinado medio material y las características del medio que la luz atraviesa. La proporción de luz que se absorbe al atravesar el medio material se denomina absorptancia ( $A$ ) y está definida por la ley de Beer-Lambert en función del coeficiente de extinción molar ( $\alpha$ ), la concentración de la sustancia absorbente ( $c$ ) y la distancia que la luz tiene que atravesar ( $l$ ) mediante la siguiente expresión

$$A = 1 - e^{-\alpha cl} \quad (3)$$

En el fotorreceptor, la concentración ( $c$ ) de sustancia absorbente está determinada por la cantidad de moléculas de rodopsina activable ( $R$ ) contenidas en el volumen del segmento externo del fotorreceptor, determinado por el área de la sección transversal ( $a$ ) y el largo del segmento externo ( $l$ ).

Se define la concentración mediante la siguiente expresión

$$c = \frac{R}{al} \quad (4)$$

Mediante la ec. 3 es posible calcular la absorptancia del segmento externo del fotorreceptor, lo que permite determinar la proporción de luz que es absorbida por las moléculas  $R$  contenidas en el fotorreceptor. Según resultados experimentales [16] la ley de Beer-Lambert determina con gran precisión la absorptancia de los segmentos externos de los fotorreceptores.

Un parámetro clave del modelo EForti es la eficiencia cuántica del 11 cis-retinal, denominada por la variable  $\Phi$ . La eficiencia cuántica representa el porcentaje de fotones que producirán una fotoisomerización al alcanzar la molécula de 11 cis-retinal.

En la ec. 5 se observa la relación entre fotones incidentes en el segmento externo del fotorreceptor por unidad de tiempo ( $I$ ), la absorptancia ( $A$ ), y la eficiencia cuántica ( $\Phi$ ), cuyo producto determina la producción de rodopsina en estado activo ( $R^*$ ). En la misma expresión modela el decaimiento de  $R^*$  al estado inactivo determinado por la constante  $\tau_R$  que define el tiempo de vida de  $R^*$ .

$$\frac{\partial R^*}{\partial t} = I(1 - e^{-\alpha cl})\Phi - \frac{R^*}{\tau_R} \quad (5)$$

Un proceso importante en la dinámica de los fotorreceptores se produce en el ciclo de bleaching, el cual consiste en un mecanismo mediante el cual las moléculas de rodopsina en estado inactivo ( $B$ ) son regeneradas para pasar a estado activable ( $R$ ). El mecanismo de bleaching puede ser descrito por la siguiente expresión

$$\frac{\partial B}{\partial t} = \frac{R^*}{\tau_R} - \frac{B}{\tau_B} \frac{K_B}{B + K_B} \quad (6)$$

El primer término está asociado al decaimiento de  $R^*$  mientras que el segundo término describe la recuperación de rodopsina en estado inactivo en un tiempo  $\tau_B$  que es variable y depende fundamentalmente de la constante de semisaturación  $K_B$ . [15]. Los parámetros utilizados en las ec.5 y 6 se describen en la Tabla 1.

Debido a la escasa información brindada por Forti sobre la conversión del estímulo luminoso utilizados en los experimentos fisiológicos a fotoisomerizaciones por segundo, se procedió a estimar los estímulos, calculando la absorptancia del fotorreceptor en las condiciones del brillo de fondo al cual es sometido el fotorreceptor, y utilizamos la ec.7 para obtener el valor en fotones por segundo necesario como estímulo del

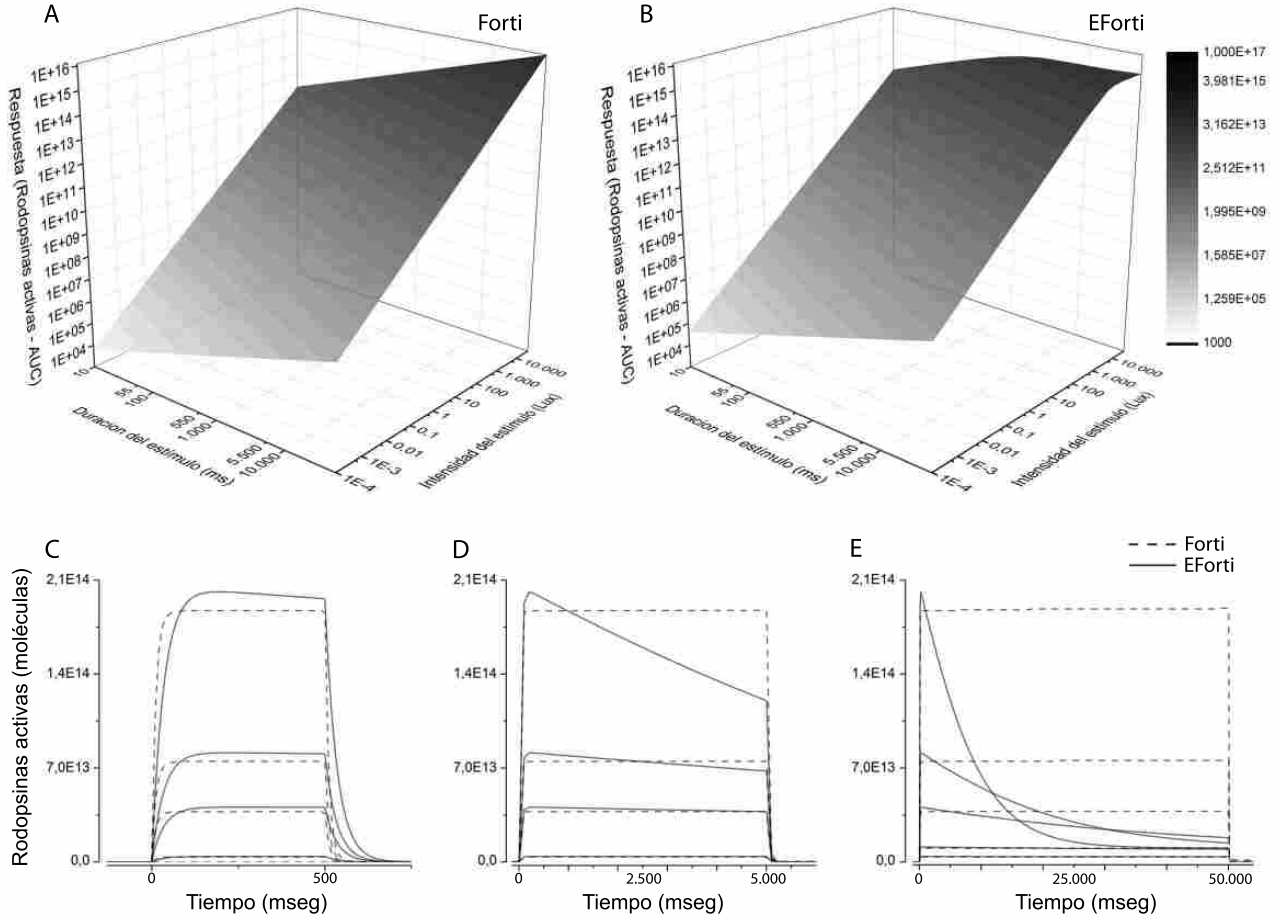


Fig. 1: Respuesta de los modelos Forti (A) y EForti (B) a estímulos de entrada exponencialmente crecientes en intensidad y duración en un fotorreceptor bastón adaptado a la oscuridad. Los gráficos C, D y E son representativos de las curvas obtenidas con estímulos de intensidad creciente y duración de 500, 5.000 y 50.000 milisegundos respectivamente.

modelo EForti.

$$I = \frac{R^*}{A\Phi} \quad (7)$$

El nuevo modelo se construyó con datos histológicos precisos de la concentración de rodopsina, el radio y el largo del segmento externo del bastón del tritón crestado, la eficiencia cuántica del 11 cis-retinal adherido a la rodopsina y otros datos experimentales como la constante de semisaturación de bleaching.

Table 1: Parámetros utilizados y sus significados

Param.	Descripción	Unidad
I	Fotones por unidad de tiempo	[s <sup>-1</sup> ]
Φ	Eficiencia cuántica del 11-cis-retinal	[sin unidad]
R*	Rodopsinas activadas	[sin unidad]
τ <sub>R</sub>	Constante de decaimiento de R* → B	[s]
l	Largo segmento externo	[μm]
α	Coefficiente de extinción molar	[litro mol <sup>-1</sup> μm <sup>-1</sup> ]
c	Concentración de Opsina activable (R)	[mol litro <sup>-1</sup> ]
B	Opsinas en estado "bleaching"	[mol]
τ <sub>B</sub>	Constante de decaimiento de B → R	[s]
K <sub>B</sub>	Constante de semisaturación de B	[mol]

### III. RESULTADOS

#### A. Respuesta del modelo empírico de Forti y el modelo EForti a entradas de amplio rango de brillo

A continuación se examina la respuesta del modelo empírico de Forti y el modelo matemático EForti a condiciones de brillo que abarcan la mayoría del rango lumínico día-noche al que son sometidos los fotorreceptores de los ver-

tebrados. Se compara la ecuación 1 y 2, modelo Forti (fig. 1 A) con la ecuación 5 y 6, modelo EForti (fig. 1 B). Ambas figuras muestran la variación de concentración de  $R^*$ , medida en área bajo la curva (AUC) en función de la intensidad y la duración del estímulo. El modelo Forti responde de manera lineal y mantiene su respuesta a lo largo de todos los estímulos a causa de que el modelo contempla una cantidad infinita de rodopsina activable (R), mientras que el modelo EForti responde de forma lineal a estímulos de bajo brillo y comienza a saturar su respuesta a estímulos de más de 1000 Lux, de manera similar a la respuesta biológica de un fotorreceptor. Las figuras 1 c, d y e son figuras representativas de la respuesta del fotorreceptor a intensidades de luz creciente y con estímulos de 500, 5.000 y 50.000 milisegundos de duración.

#### IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se aplicó la ley óptica de Beer-Lambert, la eficiencia cuántica del 11 cis-retinal y la constante de decaimiento  $\tau_R$  al proceso de activación de la rodopsina, lo que junto con la implementación del modelo matemático del ciclo de bleaching nos permite describir una dinámica más realista de la rodopsina y agregar una nueva capa de procesamiento con fundamentos biofísicos a los modelos existentes de fototransducción, permitiendo utilizar estímulos de entrada al modelo de fototransducción expresados en fotones por unidad de tiempo que es más consistente con la realidad del fotorreceptor. Este trabajo constituye una mejora y a la vez una extensión del alcance del modelo clásico de Forti y col. [1].

Si bien el ciclo de bleaching fue abarcado por diferentes autores [17,18,19], el modelo desarrollado por VanHateren (2007) [15] para aplicar a un modelo inspirado en un fotorreceptor cono y optimizado para un rápido procesamiento computacional fue tomado como base por nuestro grupo de trabajo para su implementación. El modelado detallado de todos los componentes moleculares que intervienen en el ciclo de bleaching escapa a al objetivo del presente trabajo. Sin embargo existe evidencia de que el tiempo de bleaching ( $\tau_B$ ) es modulado al menos en parte, por la concentración intracelular de Calcio[20]. Este fenómeno será estudiado por nuestro grupo en trabajos posteriores.

Nuestro objetivo es contribuir al desarrollo de un modelo matemático que responda a los fenómenos físicos, químicos y biológicos que ocurren en los fotorreceptores de la retina y que sirva como herramienta para comprender los mecanismos involucrados en las primeras etapas de la visión de las diferentes especies de vertebrados. La extensión del modelo, que permite expresar el estímulo de entrada en fotones

por segundo, sin duda incentivará la realización de nuevos y más completos experimentos que contribuyan a un mejor entendimiento de los mecanismos y la dinámica de la fototransducción.

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

#### REFERENCIAS

1. Forti, S., et al. 1989 Kinetics of phototransduction in retinal rods of the newt *Triturus cristatus*. *J Physiol* 419:265-95.
2. Dell'Orco, D., et al. 2009 Network-level analysis of light adaptation in rod cells under normal and altered conditions. *Mol Biosyst* 5(10):1232-46.
3. Hamer, R. D. 2000 Computational analysis of vertebrate phototransduction: combined quantitative and qualitative modeling of dark- and light-adapted responses in amphibian rods. *Vis Neurosci* 17(5):679-99.
4. Hamer, R. D., et al. 2005 Toward a unified model of vertebrate rod phototransduction. *Vis Neurosci* 22(4):417-36.
5. Leskov, I. B., et al. 2000 The gain of rod phototransduction: reconciliation of biochemical and electrophysiological measurements. *Neuron* 27(3):525-37.
6. Murnick, J. G., and T. D. Lamb 1996 Kinetics of desensitization induced by saturating flashes in toad and salamander rods. *J Physiol* 495 ( Pt 1):1-13.
7. Shen, L., et al. 2010 Dynamics of mouse rod phototransduction and its sensitivity to variation of key parameters. *IET Syst Biol* 4(1):12-32.
8. Yau, K. W. 1994 Phototransduction mechanism in retinal rods and cones. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35(1):9-32.
9. Farrens, D. L. 2010 What site-directed labeling studies tell us about the mechanism of rhodopsin activation and G-protein binding. *Photochem Photobiol Sci* 9(11):1466-74.
10. Caruso, G., et al. 2010 Kinetics of rhodopsin deactivation and its role in regulating recovery and reproducibility of rod photoresponse. *PLoS Comput Biol* 6(12):e1001031.
11. Kamiyama, Y., T. Ogura, and S. Usui 1996 Ionic current model of the vertebrate rod photoreceptor. *Vision Res* 36(24):4059-68.
12. Korenbrot, J. I. 2012 Speed, adaptation, and stability of the response to light in cone photoreceptors: the functional role of Ca-dependent modulation of ligand sensitivity in cGMP-gated ion channels. *J Gen Physiol* 139(1):31-56.
13. Torre, V., et al. 1990 Model of phototransduction in retinal rods. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 55:563-73.
14. Burns, M. E., and D. A. Baylor 2001 Activation, deactivation, and adaptation in vertebrate photoreceptor cells. *Annu Rev Neurosci* 24:779-805.
15. van Hateren, J. H., and H. P. Snippe 2007 Simulating human cones from mid-mesopic up to high-photopic luminances. *J Vis* 7(4):1.
16. Warrant, E. J., and D. E. Nilsson 1998 Absorption of white light in photoreceptors. *Vision Res* 38(2):195-207.
17. Laitko, U., and K. P. Hofmann 1998 A model for the recovery kinetics of rod phototransduction, based on the enzymatic deactivation of rhodopsin. *Biophys J* 74(2 Pt 1):803-15.
18. Hamer, R. D., et al. 2003 Multiple steps of phosphorylation of activated rhodopsin can account for the reproducibility of vertebrate rod single-photon responses. *J Gen Physiol* 122(4):419-44.
19. Mahroo, O. A., and T. D. Lamb 2004 Recovery of the human photopic electroretinogram after bleaching exposures: estimation of pigment regeneration kinetics. *J Physiol* 554(Pt 2):417-37.
20. Makino, C. L., et al. 2004 Recoverin regulates light-dependent phosphodiesterase activity in retinal rods. *J Gen Physiol* 123(6):729-41.