

La transducción visual

M. Lledó Riquelme¹
E. Campos Mollo²
N. Cuenca³

¹Servicio
de Oftalmología
Hospital Virgen
de los Lirios
Alcoy
Alicante

²Servicio de
Oftalmología
Hospital General
Universitario de Elche
Alicante

³Departamento
de Fisiología, Genética
y Microbiología
Universidad
de Alicante

Correspondencia:
M^a Dolores Lledó Riquelme
Reina Victoria, 18
03201 Elche. Alicante
E-mail:
malleri6@hotmail.com

Resumen

La transducción visual o fototransducción es el proceso mediante el cual un fotón genera una respuesta nerviosa en los fotorreceptores. La estimulación de la rodopsina de los bastones y las opsinas de los conos activan una compleja cascada de reacciones enzimáticas y bioquímicas como respuesta a la luz, induciendo el cierre de los canales catiónicos de la membrana del fotorreceptor. El potencial de membrana de los fotorreceptores se hiperpolariza, causando una reducción de la cantidad de neurotransmisor liberado por el terminal del fotorreceptor hacia las neuronas post-sinápticas. Determinadas mutaciones genéticas o factores ambientales pueden alterar el normal funcionamiento de los fotorreceptores provocando el desarrollo de numerosas enfermedades distróficas retinianas.

Resum

La transducció visual o fototransducció és el procés mitjançant el qual un fotó genera una resposta nerviosa en els fotoreceptors. L'estimulació de la rodopsina dels bastons i les opsines dels cons activen una complexa cascada de reaccions enzimàtiques i bioquímiques com a resposta a la llum, induint el tancament dels canals catiónics de la membrana del fotoreceptor. El potencial de membrana dels fotoreceptors s'hiperpolaritza, causant una reducció de la quantitat de neurotransmisor alliberat pel terminal del fotoreceptor cap a les neurones postsinàptiques. Determinades mutacions genètiques o factors ambientals poden alterar el normal funcionament dels fotoreceptors provocant el desenvolupament de nombroses malalties distròfiques retinals.

Summary

Visual phototransduction is a process by which light is converted into neural response in photoreceptors. Stimulation of rhodopsin in rods and opsin in cones activate a complex cascade of enzymatic and biochemical reactions in response to light, inducing the closure of cation channels in photoreceptor membrane. The membrane potential of a photoreceptor is hyperpolarized and a reduction in the amount of neurotransmitter released by the photoreceptor terminal onto postsynaptic neurons is caused. Genetic mutations or environmental factors can disturb the normal functioning of photoreceptors resulting in the development of many dystrophic retinal diseases.

Introducción

Los sistemas sensoriales del organismo reciben estímulos del medio ambiente y los transforman en estímulos nerviosos que son transmitidos al cerebro. La retina es una lámina translúcida de tejido nervioso que tapiza la parte posterior del globo ocular y procesa la información visual.

En los humanos el estímulo visual es la radiación de la zona del espectro que abarca una longitud de onda entre 400 y 760 nm, con un margen de funcionamiento muy amplio, desde la luz más brillante hasta la luz más tenue¹. La transducción visual o fototransducción es el proceso mediante el cual un fotón de luz genera una respuesta nerviosa en los fotorreceptores^{2,3}.

La rodopsina de los bastones y las opsinas de los conos son moléculas de pigmento contenidas en la porción apical de los fotorreceptores que generan una compleja cascada de reacciones enzimáticas y bioquímicas como respuesta a la luz². Este proceso conlleva el cierre de los canales catiónicos de la membrana del fotorreceptor y finalmente su hiperpolarización. Posteriormente, la señal eléctrica se transmite hacia las células bipolares y ganglionares de la retina, para finalmente, procesar estas señales en patrones complejos que son transferidos al cuerpo geniculado lateral y de allí, a la corteza visual de los lóbulos occipitales.

Nuestro conocimiento de la transducción visual ha progresado considerablemente en las últimas décadas y muchos de los hallazgos han sido posibles por los avances en el campo de la bioquímica, enzimología, biología molecular, genética y neuromorfología. Estos avances nos acercan al conocimiento de cómo los defectos moleculares en los fotorreceptores facilitan la muerte celular y la degeneración retiniana.

La biología celular, como cualquier otra ciencia especializada, utiliza un lenguaje riguroso y difícil de entender para el oftalmólogo clínico, por tanto, el objetivo principal de este artículo es propiciar el entendimiento de los procesos implicados en la transducción visual.

El estímulo físico y la percepción visual

La luz es la radiación electromagnética detectada por nuestros ojos. Esta radiación la podemos describir bien considerando un *modelo corpuscular*, o bien considerando un *modelo ondulatorio*. En el primer caso podemos considerar que la luz está compuesta por pequeñas partículas denominadas fotones que representan unidades o cuantos de energía. El término fotón proviene de la palabra griega φῶς que se transcribe como phôs y significa luz.

En el segundo caso, la luz, al igual que cualquier otra onda, puede ser caracterizada en términos de su longitud, frecuencia y amplitud.

En realidad, la luz posee propiedades tanto de partícula como de onda. Ambas características están cuantitativamente relacionadas, pues cuanto más breve sea la longitud de onda mayor es la energía⁴. Las características de onda se aplican para entender las propiedades ópticas del ojo y las propiedades de partícula (fotón) se aplican para explicar la estimulación de los fotorreceptores.

Estructura de la retina

La retina está constituida por una porción neurosensorial y por el epitelio pigmentario retiniano. El epitelio pigmentario es crucial para la captura, el almacenamiento y la movilización de la vitamina A que participa en el ciclo visual así como en la fagocitosis de los segmentos externos de los fotorreceptores. La retina de los vertebrados está compuesta por 3 capas que contienen los cuerpos neuronales y 2 capas de interacciones sinápticas denominadas plexiformes. La capa nuclear interna (CNI) contiene los cuerpos celulares de los conos y bastones. La capa nuclear externa (CNE) contiene los cuerpos celulares de las células horizontales, bipolares, amacrinas e interplexiformes, y la capa de células ganglionares (CG) contiene los cuerpos celulares de las células ganglionares. Entre estas 3 capas se localizan las capas plexiformes donde se realiza la mayor parte de contactos sinápticos de la retina. Además de las neuronas, en la retina existen tres tipos de células gliales: la microglia, los astrocitos y las células de Müller.

La capa de los fotorreceptores está aposicionada íntimamente con el epitelio pigmentario de la retina (EPR). Las microvellosidades apicales del EPR

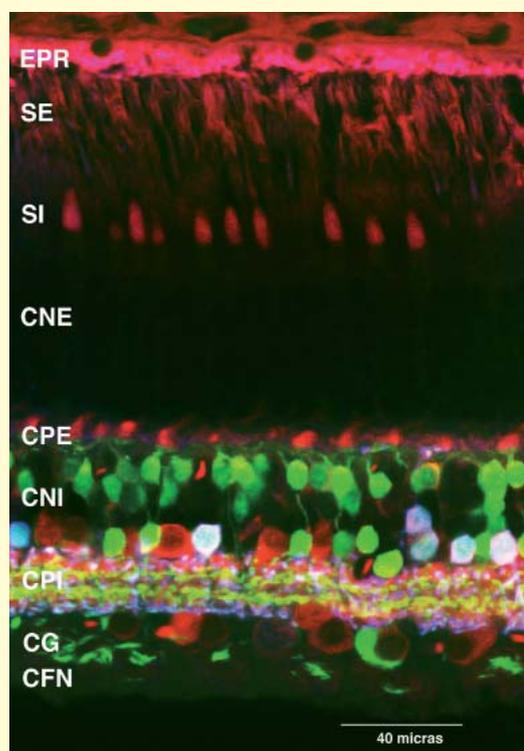
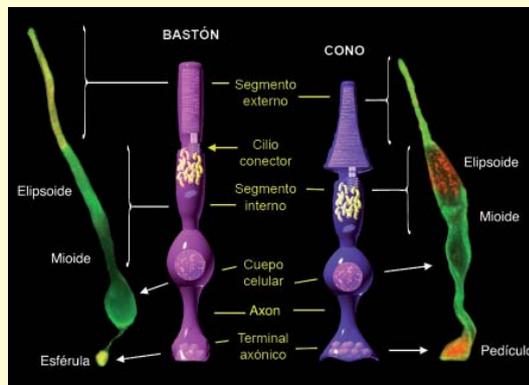


Figura 1. Corte histológico de la retina teñida con métodos inmunocitoquímicos: EPR: Epitelio pigmentario de la retina; SE: Segmento externo de los fotorreceptores; SI: Segmento interno de los fotorreceptores; CNE: Capa nuclear externa; CPE: Capa plexiforme externa; CNI: Capa nuclear interna; CPI: Capa plexiforme interna; CG: Capa de células ganglionares; CFN: Capa de fibras nerviosas

incrementan el área de superficie a través de la cual se pueden transportar los metabolitos. La luz pasa a través de las células ganglionares y atraviesa todas las capas de la retina hasta alcanzar los segmentos externos de los fotorreceptores. La señal luminosa captada por los fotorreceptores es procesada y posteriormente transmitida a las células bipolares, siendo modulada

por las células horizontales en la capa plexiforme externa. Las células bipolares emiten un axón que hace contacto sináptico en la capa plexiforme interna. En esta capa, la información que proviene de las células bipolares es procesada en complejos circuitos por las células amacrinas y ganglionares. Los axones de estas últimas constituyen el nervio óptico, a través del cual se envía la información visual al cerebro (Figura 1).

Figura 2.
Características morfológicas de los fotorreceptores



Fotorreceptores

Las células sensoriales de la retina humana son de dos clases: los conos y los bastones (Figura 2). La retina humana tiene alrededor de 6 millones de conos especializados en la visión diurna y unos 120 millones de bastones diseñados para funcionar en condiciones de baja luminosidad¹.

Los bastones y los conos están distribuidos por toda la retina. En la fóvea, la retina es muy fina y consta de una capa con alta concentración de conos, no estando presentes las demás capas de la retina. En la región parafoveal entre la capa de los fotorreceptores y la capa plexiforme externa se localiza la capa de fibras de Henle (CFH) que corresponde a los axones de los conos dispuestos oblicuamente. En la región parafoveolar y la retina periférica están presentes tanto los conos como los bastones. Sin embargo, en la periferia, el número de bastones supera al de conos en una proporción 20 a 1 (Figura 3)⁵.

La estructura del fotorreceptor comprende varias partes principales: el segmento externo y el segmento interno, un cuerpo celular, un axón y un terminal axónico. La transducción visual tiene lugar en el segmento externo.

El segmento externo tiene forma cilíndrica y está conectado con el segmento interno por un delgado cilio. Contiene discos densamente empaquetados, formados por invaginaciones de la membrana plasmática en los conos, y discos superpuestos a modo de pila de monedas y recubiertos por la membrana plasmática en los bastones (Figura 4).

El segmento interno contiene los orgánulos subcelulares típicos, incluidos el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi en una zona denominada el mioide, y un gran cúmulo de mitocondrias debajo del segmento externo denominada elipsoide, así como un cuerpo sináptico, localizado en el extremo más interno de dicho segmento que establece contacto sináptico con las células bipolares y horizontales de la retina. El terminal axónico, denominado esférula en los bastones y pedículo en los conos, contiene una gran cantidad de vesículas sinápticas, de forma

Figura 3.
Sección de la retina a nivel de la fóvea teñida con métodos inmunocitoquímicos utilizando anticuerpos específicos: CO: Coroides; EPR: Epitelio pigmentario retiniano; SE: Segmento externo de los fotorreceptores; SI: Segmento interno de los fotorreceptores; CNE: Capa nuclear externa; CFH: Capa de las fibras de Henle; CPE: Capa plexiforme externa; CNI: Capa nuclear interna; CPI: Capa plexiforme interna; CG: Capa de células ganglionares; CFN: Capa de fibras nerviosas

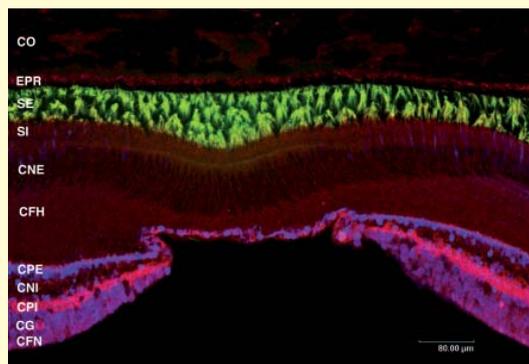


Figura 4.
Diferencias entre segmentos externos de bastones y conos. En los bastones no existe continuidad entre los discos y la membrana plasmática a diferencia de los conos



que los neurotransmisores almacenados en ellas son liberados a la hendidura sináptica continuamente en la oscuridad. Cuando el segmento externo absorbe la luz se produce la fototransducción y se deja de liberar los neurotransmisores¹.

El sistema visual es único en el sentido que el mecanismo de transducción implica en la membrana plasmática una hiperpolarización en vez de una despolarización, lo que significa que su potencial de membrana se vuelve más negativo (-70 a -80 mV)⁶.

Fototransducción

Pigmentos visuales

Los fotorreceptores pueden responder a la luz debido a que contienen altas concentraciones de pigmento visual en las membranas de los discos de sus segmentos externos. El pigmento visual de los bastones es la rodopsina.

La rodopsina está formada por una proteína transmembrana llamada opsina que está unida covalentemente a un cromóforo llamado retinal derivado de la vitamina A. La opsina es una cadena polipeptídica formada por unos 348 aminoácidos. Consta estructuralmente de tres dominios diferenciados: el dominio citoplasmático que se corresponde con el extremo C-terminal y es el lugar donde se produce la transducción de la señal luminosa; el dominio transmembrana que consta de 7 hélices que atraviesan perpendicularmente la membrana celular; y el dominio extracelular que se corresponde con el extremo N-terminal (Figura 5)⁷.

El retinal es la parte sensible a la luz y está unido a una de las hélices en el centro de la molécula y colocado perpendicularmente. Presenta dos conformaciones: una forma cis y una forma trans. En la oscuridad, el retinal se encuentra en la forma cis, pero cuando un fotón de luz es absorbido, rápidamente cambia a la forma trans, variando no solo la conformación del retinal sino también de la opsina. Este proceso se llama isomerización (Figura 6)⁸.

Bioquímica de la visión

Los fotorreceptores de la retina son muy sensibles y adaptables, pero relativamente lentos. De hecho, en condiciones óptimas, un fotorreceptor tarda cerca de 25 milisegundos en alcanzar la máxima intensidad, lo que supone una respuesta 100 veces más lenta que otras células sensoriales⁹.

La mayor parte de nuestro conocimiento de la fototransducción procede de la información relativa a los bastones. Se puede obtener mucho más material bioquímico de los bastones que de los conos puesto que los bastones son mucho más numerosos en la retina.

Oscuridad

El GMPc es una molécula central en la transducción visual que actúa como segundo mensajero. Todos los aspectos de señalización de esta cascada catalítica están dominados por el balance entre la síntesis y degradación de esta sustancia en el citoplasma del segmento externo del fotorreceptor. La cantidad de GMPc libre es constantemente monitorizada por unos canales catiónicos localizados en la membrana plasmática del segmento externo¹⁰.

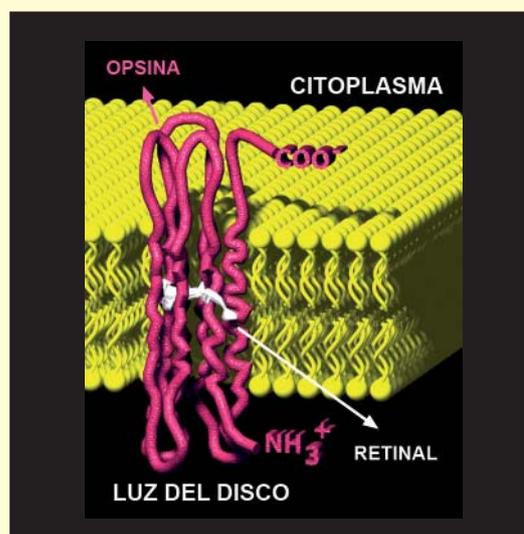


Figura 5. Estructura de la rodopsina. El dominio citoplasmático se corresponde con el extremo C-terminal y es el lugar donde se produce la transducción de la señal luminosa

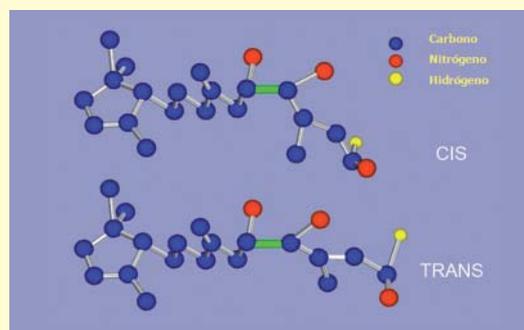
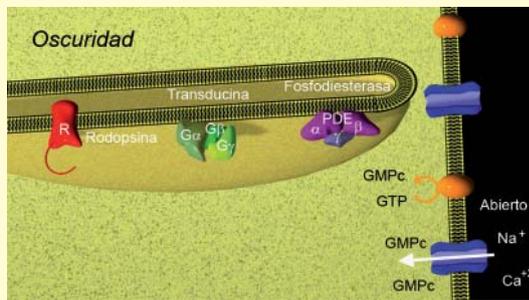


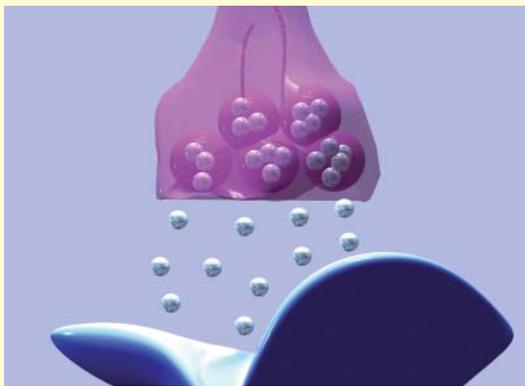
Figura 6. Proceso de isomerización del retinal. Forma cis y trans del retinal

Figura 7.
Esquema de la fototransducción en la oscuridad



El GMP cíclico se une a la superficie interna de los canales de sodio y los abre. Se origina de esta forma la denominada corriente oscura que da como resultado la despolarización del fotorreceptor. Es decir, hace más positivo el potencial de membrana del fotorreceptor (-40 mV) y se abren los canales de Ca^{2+} con la consiguiente entrada de estos iones en el interior celular (Figura 7)⁶. La despolarización del fotorreceptor permite la liberación continua del neurotransmisor denominado glutamato (Figura 8).

Figura 8.
Liberación continua de glutamato en la oscuridad por las vesículas sinápticas



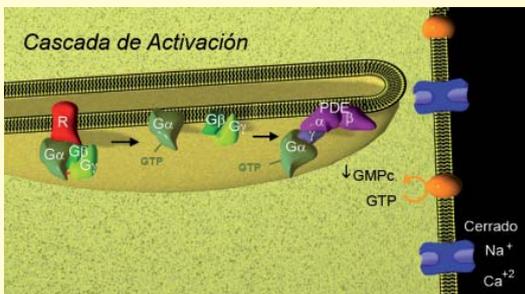
Luz: activación y amplificación de la cascada

El evento molecular inicial consiste en la absorción de un fotón por la rodopsina, el cual causa la isomerización del retinal, produciéndose un cambio conformacional de la rodopsina a su estado activo¹⁻⁹.

La rodopsina, excitada por la luz, cataliza el intercambio de los nucleótidos GDP (guanosildifosfato) por GTP (guanosiltrifosfato) de una proteína G denominada transducina¹⁻⁹.

Las proteínas G son un grupo de proteínas encargadas de enviar señales desde los receptores de membrana activados (en este caso la rodopsina) a las enzimas y a los canales en numerosos procesos sensoriales y hormonales de los organismos eucariotas. La transducina consta de 3 subunidades (alfa, beta y gama), siendo la subunidad alfa ($T\alpha$ -GTP) la utilizada para activar a otra enzima denominada fosfodiesterasa (PDE). Como consecuencia de la activación de la fosfodiesterasa se estimula la degradación de una molécula denominada GMPc (monofosfato cíclico de guosina) (Figura 9)¹¹.

Figura 9.
Cascada de activación



Por tanto, en presencia de luz, los niveles de GMPc disminuyen como consecuencia de la activación de la PDE, ocasionando el cierre de 250 canales de Na^+ por un cuanto de luz absorbida. Todo ello dura alrededor de un segundo. De esta forma, se acumulan iones de sodio en el exterior de la membrana plasmática y el potencial de receptor adopta una forma de hiperpolarización⁶.

Este cambio en el potencial de membrana conduce al cierre de los canales de calcio dependientes de voltaje que a su vez conlleva una disminución de la entrada de Ca^{2+} en la sinapsis^{12,13}. El resultado final es una disminución de la secreción del neurotransmisor glutamato por parte de los fotorreceptores (Figura 10). La sinapsis con las células bipolares es inhibitoria, por tanto se deja de inhibir a la célula bipolar, formándose un impulso nervioso que es transmitido a las células ganglionares y de éstas al cerebro.

Figura 10.
Esquema de la corriente de despolarización en la oscuridad (corriente oscura) y de la hiperpolarización en condiciones lumínicas con el bloqueo de la liberación del neurotransmisor inhibitorio denominado glutamato



Cascada de inactivación

Cada reacción de la cascada catalítica activada por la luz debe estar compensada por una reacción de inactivación correspondiente con el fin de devolver el fotorreceptor a su estado de reposo después de que haya sido excitado por la luz. Este tiempo de recuperación es esencial para que el fotorreceptor pueda generar respuestas ante nuevos estímulos luminosos y cambios en los niveles de iluminación^{9,10}.

La inactivación de la rodopsina se lleva a cabo mediante su fosforilación por la rodopsina quinasa, seguida de la posterior unión de la arrestina^{14,15}. La inactivación de la PDE se consigue mediante la hidrólisis de GTP unido a la subunidad α -GTP de la transducina junto con la unión de un complejo de multiproteínas denominado RGS9-1.G β 5.R9AP (Figura 11)¹⁶⁻¹⁸.

Por otro lado, la restauración de los niveles de GMPc citoplásmico a su nivel de oscuridad se lleva a cabo por medio de una enzima denominada guanilato ciclasa que se encarga producir GMPc a partir de GTP¹⁹. La actividad de dicha enzima está estimulada por las proteínas GCAP (proteínas activadoras de la guanilato ciclasa) que detectan el descenso de Ca intracelular secundario al cierre de los canales con la luz²⁰.

Ciclo visual

La habilidad de los fotorreceptores para trabajar durante muchas horas de iluminación requiere que los pigmentos visuales inactivos sean continuamente regenerados. La inactivación de la rodopsina mediante su fosforilación y la posterior unión de la arrestina provoca su descomposición, generándose, en último término, la opsina y el todo-trans-retinal¹⁰.

El todo-trans-retinal es transportado al EPR a través de la proteína transportadora ligante de ATP (adenosin trifosfato) codificado por un gen denominado ABCR. Posteriormente, el todo-trans-retinal se convierte en 11-cis-retinal que vuelve a los bastones para unirse a la opsina libre y regenerar el pigmento visual²¹. Mutaciones en el gen ABCR se han asociado a la enfermedad de Stargardt y fundus flavimaculatus.

Este proceso se denomina ciclo visual y requiere una secuencia de reacciones bioquímicas complejas en las que participan diferentes enzimas y proteínas ligantes de retinoides tanto en los discos de los fotorreceptores como en el EPR. En la actualidad se han identificado mutaciones que afectan a las proteínas del ciclo visual en diferentes distrofias retinianas, generalmente con un patrón de herencia recesivo²¹.

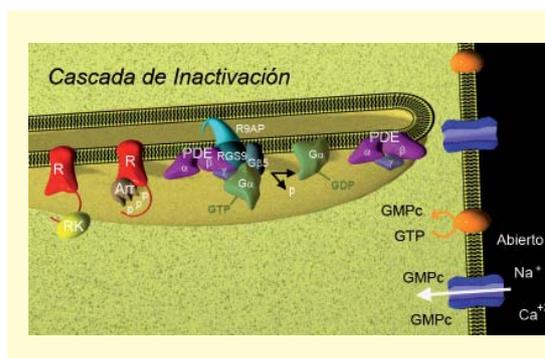


Figura 11.
Cascada de inactivación

La fototransducción y las enfermedades neurodegenerativas

El adecuado desarrollo y funcionamiento retiniano requiere un balance preciso entre los procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular programada (o apoptosis). Determinadas mutaciones genéticas o factores ambientales pueden activar vías específicas para inducir la apoptosis en los fotorreceptores contribuyendo al desarrollo de numerosas enfermedades distróficas y degenerativas de la retina. Las alteraciones genéticas responsables de las enfermedades neurodegenerativas pueden producirse a cualquier nivel de la cascada de transducción produciendo daños estructurales y funcionales. Por otro lado, los fotorreceptores, debido a su intensa actividad metabólica, generan gran cantidad de radicales libres y otros agentes oxidantes cuya eliminación es crucial para la salud celular. El estrés oxidativo se produce cuando el equilibrio entre agentes oxidantes y antioxidantes se ve descompensado, provocando la disfunción y muerte celular por oxidación de proteínas, lípidos y ADN.

Las líneas de investigación actual intentan desarrollar tratamientos basados en la manipulación de la apoptosis de los fotorreceptores como: a. la terapia génica; b. el implante de células encapsuladas modificadas genéticamente para liberar factores tróficos (en particular el factor neurotrófico ciliar)²²; c. el trasplante de células retinianas en el espacio subretiniano^{23,24}; d. la terapia con células madre pluripotenciales²⁵; y por último, e. sistemas protésicos visuales que se basan en la implantación de microchips que generan impulsos eléctricos actuando como una retina artificial²⁶. Algunas de estas líneas de investigación se encuentran en fases I y II de experimentación clínica en humanos²².

Todos estos avances en el campo de la investigación han proporcionado una nueva visión fisiológica y

patogénica de las enfermedades retinianas. Aunque sigue siendo necesario profundizar en la investigación básica, en la actualidad, las terapias genéticas y celulares se establecen como aproximaciones realistas para el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas.

Bibliografía

1. Rawn JD. Biochemistry. Madrid: McGraw Hill-Interamericana, 1989;1049-76.
2. Chabre M, Deterre P. Molecular mechanism of visual transduction. *Eur J Biochem.* 1989;179:255-66.
3. Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh EN, Jr. G proteins and phototransduction. *Annu Rev Physiol.* 2002;64:153-87.
4. Prado-Serrano A, Camas-Benítez JT, Sánchez-Fonseca RC. Fototransducción visual. *Rev Mex Oftalmol.* 2009;80:340-6.
5. Goldstein EB. Sensation and perception. Madrid: Thomson Paraninfo, 2005:35-76.
6. Baylor DA. Photoreceptor signals and vision. Proctor lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1987;28:34-49.
7. Hargrave PA. Rhodopsin structure, function, and topography the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:3-9.
8. Kono M, Goletz PW, Crouch RK. 11-cis- and all-trans-retinols can activate rod opsin: rational design of the visual cycle. *Biochemistry.* 2008;47:7567-71.
9. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular biology of the cell. *New York: Garland Science,* 2008:879-964.
10. Burns ME, Arshavsky VY. Beyond counting photons: trials and trends in vertebrate visual transduction. *Neuron.* 2005;48:387-401.
11. Stryer L, Bourne HR. G proteins: a family of signal transducers. *Annu Rev Cell Biol.* 1986;2:391-419.
12. Hodgkin AL, McNaughton PA, Nunn BJ. Measurement of sodium-calcium exchange in salamander rods. *J Physiol.* 1987;391:347-70.
13. Nakatani K, Yau KW. Calcium and magnesium fluxes across the plasma membrane of the toad rod outer segment. *J Physiol.* 1988;395:695-729.
14. Kennedy MJ, Lee KA, Niemi GA, et al. Multiple phosphorylation of rhodopsin and the in vivo chemistry underlying rod photoreceptor dark adaptation. *Neuron.* 2001;31:87-101.
15. Wilden U, Hall SW, Kuhn H. Phosphodiesterase activation by photoexcited rhodopsin is quenched when rhodopsin is phosphorylated and binds the intrinsic 48-kDa protein of rod outer segments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83:1174-8.
16. He W, Cowan CW, Wensel TG. RGS9, a GTPase accelerator for phototransduction. *Neuron.* 1998;20:95-102.
17. Makino ER, Handy JW, Li T, Arshavsky VY. The GTPase activating factor for transducin in rod photoreceptors is the complex between RGS9 and type 5 G protein beta subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:1947-52.
18. Hu G, Wensel TG. R9AP, a membrane anchor for the photoreceptor GTPase accelerating protein, RGS9-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:9755-60.
19. Pugh EN, Jr., Duda T, Sitaramayya A, Sharma RK. Photoreceptor guanylate cyclases: a review. *Biosci Rep.* 1997;17:429-73.
20. Palczewski K, Sokal I, Baehr W. Guanylate cyclase-activating proteins: structure, function, and diversity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;322:1123-30.
21. Bessant DA, Kaushal S, Bhattacharya S. Genética y biología de las distrofias retinianas hereditarias. In: Kaufman PL, Alm A, eds. *Adler's physiology of the eye.* Madrid: Elsevier, 2004:358-80.
22. Vecino E. [Gene therapy against retinosis pigmentaria]. *Arch Soc Esp Ophthalmol.* 2008;83:213-4.
23. Cuenca N, Pinilla I, Sauve Y, et al. Regressive and reactive changes in the connectivity patterns of rod and cone pathways of P23H transgenic rat retina. *Neuroscience* 2004;127:301-17.
24. Cuenca N, Pinilla I, Sauve Y, Lund R. Early changes in synaptic connectivity following progressive photoreceptor degeneration in RCS rats. *Eur J Neurosci.* 2005;22:1057-72.
25. Pinilla I, Cuenca N. [Update on retinal transplantation and its clinical limitations]. *Arch Soc Esp Ophthalmol.* 2006;81:239-40.
26. Chow AY, Chow VY, Packo KH, et al. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol.* 2004;122:460-9.