

Mario E Guido

Centro de Investigaciones en Química Biológica
de Córdoba (CIQUIBIC), UNC-Conicet

Percibir la luz proporciona más que visión a los animales

La luz constituye una fuente esencial de vida y energía que los organismos perciben mediante unas proteínas específicas conocidas como *fotopigmentos* u *opsinas*. Por la percepción de la luz, los seres vivos aprecian el medio que los circunda, incluida la sucesión del día y la noche. En los vegetales, los fotopigmentos intervienen en la fotosíntesis; en los animales, comandan tanto funciones asociadas con la formación de imágenes, como actividades reflejas y subconscientes. Ejemplos de las segundas en los seres humanos son la sincronización de los ritmos biológicos, la apertura y el cierre de la pupila (*reflejo pupilar*), el sueño, la supresión de las secreciones de la hormona melatonina por la glándula pineal

y la ftofobia. El déficit de luz o la alteración de las condiciones de iluminación —originadas en cambios estacionales, uso de iluminación artificial, modificación de horarios de trabajo o vuelos transmeridianos— producen en las personas perturbaciones del sueño, desincronización de los ritmos diarios, depresiones estacionales, *jet lag*, etcétera.

Los fotopigmentos de los vertebrados, localizados en las membranas de *neuronas fotorreceptoras*, convierten la luz en información química y esta estimula la generación por parte de las neuronas de señales eléctricas que transmiten por impulsos al cerebro. Lo anterior acontece en los ojos, órganos que se caracterizan por una de las mayores complejidades morfológicas producidas por la evolución.

¿DE QUÉ SE TRATA?

Además de permitirles ver, los ojos de los animales, incluidos los humanos, cumplen otras funciones bajo el estímulo de la luz, y lo hacen aun en casos de ausencia de visión.

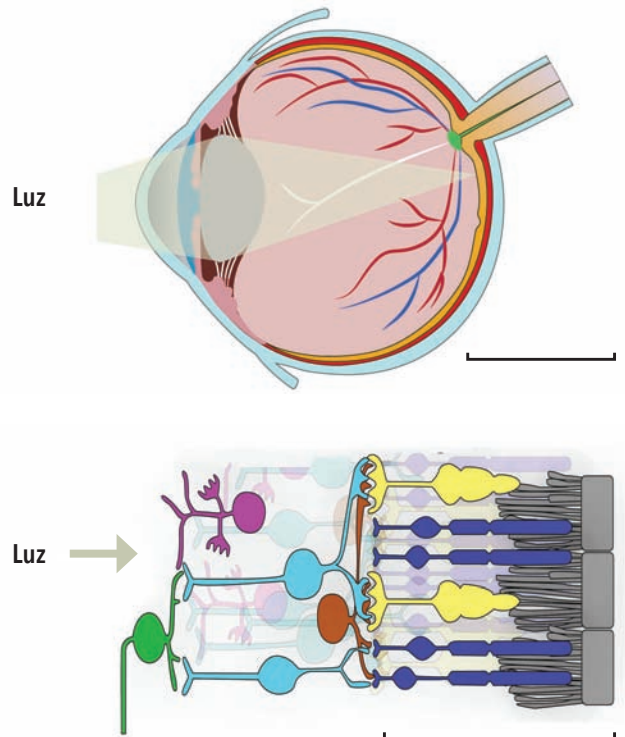
Un grupo de componentes de los ojos colectan la luz y la proyectan sobre la retina, un tejido nervioso especializado que se encuentra en la parte interna posterior del globo ocular y compuesta por varias capas, entre ellas, de afuera a adentro: la capa neuronal externa (que contiene los fotorreceptores visuales), la capa plexiforme externa, la capa neuronal interna (donde se ubican las células horizontales, bipolares y amacrinas), la capa plexiforme interna y la capa ganglionar. Las células fotorreceptoras visuales de la retina son de dos clases: conos y bastones. Están en contacto con el epitelio pigmentario (que recubre la retina por su lado externo e impide la difusión de la luz) y se conectan mediante *sinapsis* con las células de la capa neuronal interna, y estas con las células ganglionares, cuyas prolongaciones en forma de fibras o axones forman el nervio óptico, por el cual los impulsos nerviosos llegan al cerebro.

Doble función de células de la retina

A pesar de que desde 1920 se sabía que ratones ciegos percibían luz pues esta les hacía contraer sus pupilas, solo hace poco se descubrió cómo operaría tal fotosensibilidad. En 1998 Ignacio Provencio, un biólogo estadounidense de la Universidad de Virginia, identificó en un anfibio africano, la pequeña rana de uñas (*Xenopus laevis*), un fotopigmento denominado *melanopsina*, y en 2000 constató su presencia en las células ganglionares de mamíferos, incluidos humanos. Poco tiempo después, David Berson, profesor de Brown University, observó que ciertas células ganglionares respondían directamente a la luz, igual que los conos y bastones, y las describió como *células ganglionares intrínsecamente fotosensibles*. Esas células están conectadas con una zona del cerebro (el núcleo supraquiasmático del hipotálamo) que en los mamíferos controla los ritmos circadianos, es decir, los ritmos diarios fisiológicos y de comportamiento.

Dichas células ganglionares fotosensibles también están presentes en otros vertebrados, como aves, peces y anfibios. Nuestro laboratorio las estudia en pollos, de cuyas retinas también forman parte. Conforman un circuito independiente del visual y serían responsables, mediante conexiones con áreas específicas del cerebro, de regular el reloj biológico, de controlar la apertura de la pupila y de otras funciones no directamente asociadas con la formación de imágenes. Como explicó el mencionado Provencio, esto significa que ‘nuestros ojos actúan como dos órganos en uno’, igual que los oídos, que nos proporcionan audición y sentido de equilibrio.

Constatado lo anterior, la pregunta que sigue es de qué mecanismos se valen las células ganglionares fotosensibles para transmitir la información al cerebro. Nuestras investigaciones bioquímicas y farmacológicas en células



El esquema superior representa un corte vertical del ojo humano: muestra la retina (anaranjada), el epitelio pigmentario (rojo) y el nervio óptico (verde). El óvalo representa el cristalino o lente, al que llega la luz luego de atravesar la córnea (a la izquierda). La barra que da la escala mide 10 milímetros. El croquis inferior es un corte transversal enormemente ampliado de un fragmento de la retina: los rectángulos grises a la derecha indican el epitelio pigmentario, que envuelve la cara exterior de la retina; las células fotorreceptoras son los conos (amarillo) y los bastones (violeta), hacia adentro de los cuales están las células horizontales (marrón), amacrinas (fucsia) y bipolares (celeste), y en la cara interior de la retina se encuentran las células ganglionares (verde) cuyos axones forman el nervio óptico que se conecta con el cerebro. La barra que da la escala mide 10 micrómetros (es decir, 10 milésimas de milímetro).

ganglionares de embriones de pollo arrojaron alguna luz sobre esta cuestión. Encontramos que actuarían mediante una serie de reacciones bioquímicas llamada *fotocascada* o *cascada de fototransducción*, muy semejante a otras series de reacciones que se encontraron en fotorreceptores de invertebrados, por ejemplo, en moscas. Esto lleva a pensar que las células ganglionares fotosensibles —que al presente coexisten en la retina con los conos y bastones— tendrían una larga historia evolutiva, la cual se remontaría a ancestros comunes de los vertebrados e invertebrados actuales. Además, aparecen muy tempranamente en el desarrollo de los vertebrados, antes de que aparezcan los fotorreceptores visuales y algún esbozo de visión formal.

Diferentes fotorreceptores de los vertebrados

Si bien existe una gran variedad de ojos en la naturaleza, con mayor o menor complejidad, solo se conocen

dos clases de células fotorreceptoras: los *fotorreceptores rabdoméricos*, propios de los invertebrados, y los *fotorreceptores ciliados*, formados por conos y bastones, encontrados en los vertebrados. Los primeros tienen una membrana con microvellosidades donde se concentran los fotopigmentos, es decir, las opsinas. Los segundos tienen pequeñas protuberancias llamadas cilios, cuyos pliegues en forma de pequeñas bolsas o *sáculos* contienen las opsinas y toman la típica forma de cono o bastón. En ambos tipos de fotorreceptores, las opsinas están químicamente unidas a un derivado de la vitamina A llamado *retinal*. Si bien las opsinas de ambos tipos de fotorreceptores presentan cierta homología, usan sistemas distintos de transducción nerviosa, es decir, convierten de diferente manera la luz en señales nerviosas. Los fotorreceptores rabdoméricos se despolarizan por la luz: su interior se vuelve menos negativo; los ciliados se hiperpolarizan: su interior se vuelve más negativo.

Los conos de los fotorreceptores ciliados son sensibles a la luz intensa y sus opsinas responden a diferentes longitudes de onda, por lo que proporcionan visión diurna y de colores; los bastones son sensibles a la luz tenue, por lo que proporcionan visión nocturna. En los invertebrados, los fotorreceptores rabdoméricos, asociados con células pigmentarias, forman los ojos. En los vertebrados, la evolución habría transformado fotorreceptores rabdoméricos ancestrales en células ganglionares fotosensibles y, presumiblemente, en otras células de la retina. Así, las células fotorreceptoras de los vertebrados son responsables de la visión, mientras que las células ganglionares fotosensibles regulan funciones reflejas y subconscientes.

Un nuevo fotopigmento en la retina de los vertebrados

La evidencia directa de que la melanopsina, el fotopigmento identificado por Provencio, posee efectivamente fotosensibilidad provino de estudios en los que: (i) se estableció que una célula cualquiera puede volverse fotosensible si, por procedimientos de ingeniería genética, se logra que produzca (técnicamente, que *expresé*) melanopsina, y (ii) ratones de laboratorio genéticamente modificados de manera que perdieran tanto la capacidad de expresar melanopsina como la funcionalidad de conos y bastones resultaron incapaces de detectar luz.

Se han identificado dos genes que regulan la expresión de la melanopsina en los vertebrados. Se los denomina *Opn4x* y *Opn4m*, o genes de melanopsina x y m, letras que aluden respectivamente al mencionado anfibio africano del género *Xenopus* y a los mamíferos. En los mamíferos solo se encuentra el gen m, por lo que se habla de melanopsina



Rana de uñas (*Xenopus laevis*), nativa del África subsahariana. Las hembras miden unos 12cm y pesan 120g; los machos, 5cm y 60g. Brian Gratwicke Flickr

m, mientras que en aves, anfibios y peces están presentes y se expresan ambos, m y x. A lo largo de la evolución, en los tiempos en que los mamíferos se desplazaron a hábitos de vida nocturna, se produjo una reducción significativa de su fotosensibilidad y sufrieron la pérdida de los genes de melanopsina x y de determinadas opsinas visuales, algunas de las cuales recuperaron después. En cambio, aves y otros vertebrados desarrollaron sistemas de fotodetección complejos que incluyeron la glándula pineal y fotorreceptores encefálicos, lo cual les permitió medir la longitud del día y regular la migración y reproducción estacional.

En la retina de pollos se ha encontrado tanto melanopsina x como melanopsina m. Nuestro laboratorio fue pionero en establecer la presencia de ambas opsinas en el ave, confinadas en la primera etapa embrionaria a las células ganglionares, sus axones y el nervio óptico que conecta la retina con el cerebro. En estadios embrionarios posteriores y posnatales, la melanopsina m se mantiene confinada en las células ganglionares, pero la melanopsina x adquiere también fuerte presencia en las células horizontales de la capa nuclear interna de la retina, cercanas a los fotorreceptores visuales. Estos resultados sugieren que dichas células podrían conservar cierta fotosensibilidad intrínseca, algo que al presente estamos procurando demostrar. De confirmarse estas observaciones, se abren nuevos interrogantes sobre las funciones de dichas células en la respuesta a la luz, en circuitos retinales y en la información enviada al cerebro.

El estudio de la fotopercepción no visual

Aun en situaciones de ceguera, el ojo puede actuar como sensor de las condiciones ambientales de iluminación, pues la retina es la vía de entrada de información lumínica que regula funciones no visuales. Los vertebrados



responden a la luz de la región visible del espectro electromagnético con longitudes de onda entre 400 y 600nm, es decir, las longitudes de onda entre el rojo y el violeta respectivamente. Si bien en individuos ciegos los conos y bastones no funcionan, sí lo hace un tercer grupo de fotorreceptores de la retina cuya máxima sensibilidad está en la zona del azul: las células ganglionares fotosensibles.

En algunos casos de ceguera en humanos por progresiva degeneración de la retina, se mantienen vigentes el reflejo pupilar y los efectos de la luz sobre la producción de melatonina. Esto también se ha estudiado en diversos animales, principalmente ratones, y dejó en evidencia las funciones de dicho tercer grupo de fotorreceptores ganglionares.


Para realizar esos estudios en pollos, analizamos, por un lado, un grupo de animales sanos, a modo de control de los experimentos, y por otro lado un grupo de pollos (llamados GUCY1) que nacen ciegos debido a haber heredado una mutación genética que produce el deterioro progresivo de su retina, con sus conos y bastones carentes de funcionalidad, si bien el resto de la retina permanece funcional. Estos animales padecen una ceguera similar a la amaurosis de Leber, una rara condición genética descubierta por el oftalmólogo alemán Theodor von Leber (1840-1917), congénita en los humanos.

En nuestro laboratorio apreciamos que las retinas de los pollos GUCY1 lucen morfológicamente normales durante las primeras semanas de vida, pero luego la capa de células fotorreceptoras presenta signos de degeneración, mientras el resto de la retina se mantiene sin cambio. También constatamos en estos pollos la ausencia de actividad eléctrica en sus retinas cuando se los somete a

luces de distinta intensidad y composición. Los animales, pues, resultan clínicamente ciegos.

Establecido lo anterior, investigamos la sincronización de los ritmos diarios de alimentación de los pollos y su reflejo pupilar. Comprobamos que tanto los animales sanos como los ciegos ajustaban con precisión sus ritmos diarios de alimentación a las fases de luz y oscuridad. Estos ritmos diarios persistieron en los animales ciegos, aun en los casos en que bloqueamos los fotorreceptores cerebrales e incluso cuando removimos quirúrgicamente su glándula pineal.

Los pollos ciegos también continúan experimentando reflejo pupilar, igual que los sanos. Estudiamos los efectos en ese reflejo de distintas intensidades y longitudes de onda de luz visible y constatamos mayor respuesta en la zona de luz azul, la misma que causa la excitación del fotorpigmento melanopsina.

De nuestros estudios se concluye que los pollos GUCY1, a pesar de su ceguera, perciben luz por sus células ganglionares fotosensibles, lo que regula distintas funciones de su organismo. Nuevas evidencias obtenidas principalmente en mamíferos, por otro lado, indicarían que dichas células ganglionares podrían contribuir también a la visión, lo que abre un panorama complejo y desafiante para investigaciones futuras. 

Las investigaciones del laboratorio del autor fueron subsidiadas por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, el Conicet, la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba, las fundaciones Antorchas y Fiorini, la Sociedad Internacional de Neuroquímica y la JS Guggenheim Foundation. Agradecemos a L Corbella, S Deza y S Moyano por su discusión crítica del manuscrito y a N Díaz por el diseño del gráfico.

LECTURAS SUGERIDAS

GUIDO ME y PANZETTA P, 2008, 'Evolución de los ojos y fotorreceptores', *Oftalmología Clínica y Experimental*, 2, 5: 27-32, accesible (agosto de 2015) en <http://www.oftalmologos.org.ar/oce/items/show/214>.

GUIDO ME et al., 2010, 'Inner retinal circadian clocks and non-visual photoreceptors: Novel players in the circadian system', *Progress in Neurobiology*, 92, 4: 484-504.

PROVENCIO I, 2011, 'Hidden organ in our eyes found to control circadian rhythms and emotions', *Scientific American*, 304, 54-59.



Mario E Guido

Doctor en ciencias químicas, UNC.
Profesor titular, Facultad de Ciencias Químicas, UNC.
Investigador principal del Conicet en el CIQUIBIC.
mguido@fcq.unc.edu.ar