



---

**Universidad de Valladolid**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

# **Grado en Óptica y Optometría**

**MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO**

Distintos tipos de células fotosensibles del  
sistema visual humano.

Presentado por: Olga Gómez García.

Tutelado por: Alejandro Hernán Gloriani.

Tipo de TFG: Revisión bibliográfica.

En Valladolid a de de 2016

## ÍNDICE

RESUMEN.....	3
1- JUSTIFICACIÓN .....	4
2 - OBJETIVOS .....	4
3 - MATERIALES Y MÉTODOS .....	5
4 - INTRODUCCIÓN .....	6
4.1. TIPOS DE FOTORRECEPTORES RETINIANOS.....	6
4.2. FOTORRECEPTORES TRADICIONALES .....	6
4.3. PIGMENTOS VISUALES Y TRANSDUCCIÓN VISUAL .....	8
4.4. ipRGCs .....	8
5 - DESARROLLO .....	12
5.1. DESCUBRIMIENTO .....	12
5.2. FUNCIONES Y PROYECCIONES CENTRALES .....	12
5.3. TIPOS DE ipRGCs .....	13
5.4. RITMO CIRCADIANO Y FUNCIÓN DE CADA FOTORRECEPTOR .....	14
5.5. PAPEL DEL GLUTAMATO EN LA REGULACIÓN DEL RITMO CIRCADIANO .....	17
6 - DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	20
7 - EVOLUCIÓN TEMPORAL .....	21
BIBLIOGRAFÍA .....	22

## Resumen

Existen en la retina dos tipos de células fotosensibles ampliamente conocidos, estos son los conos y los bastones. Hay tres tipos diferentes de conos, sensibles a distintas longitudes de onda, y un solo tipo de bastón, sensible a otra longitud de onda diferente. Los conos son los encargados de la visión en color y los bastones son altamente sensibles en luminancias bajas.

Estos fotorreceptores, además de la generación y transmisión de la información visual consciente, intervienen en la adquisición y transmisión de información visual no formadora de imágenes, como la que controla el ritmo circadiano y la respuesta pupilar a la luz (PLR).

Se creía que estos eran los dos únicos tipos de células fotosensibles en la retina de los mamíferos, sin embargo, recientemente, se han descubierto otras células de este tipo, las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (ipRGCs). Estas células son un subtipo de células ganglionares que, a diferencia de la mayor parte de esta clase de neuronas, contienen melanopsina, un fotopigmento que las hace fotosensibles. Desde finales de los años noventa hasta la actualidad se han realizado una gran cantidad de estudios relacionados con las ipRGCs y la melanopsina, poniendo en evidencia la importancia de estas células tanto en procesos relacionados con la información visual consciente, como con aquellos vinculados con la información visual no formadora de imágenes, principalmente, implicados en el control del ritmo circadiano.

## Abstract

In the retina there are two widely known photoreceptors, these are cones and rods. There are three different types of cones sensitive to different wavelengths and one type of rods sensitive to a different wavelength. Cones are responsible for color vision while rods are highly sensitive to low light levels.

These photoreceptors, in addition to being responsible for the formation and transmission of image forming visual information, are a part of assembling the non-image forming information, such as the circadian clock and pupillary response to light (PLR).

These two were believed to be the only two photosensitive cells on the mammal's retina, however, another of these types of cells was recently discovered. The intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs). ipRGCs are a subtype of the ganglion cells which have melanopsin; a photopigment that makes them photosensitive. For the last 20 years many investigations and articles were made, showing the great importance of these cells in the image-forming processes as well as the non-image forming ones, but specially in the circadian clock.

## **1. Justificación**

La existencia de los conos y los bastones como fotorreceptores retinianos es algo extendido y aceptado, sin embargo, en los últimos años, se ha descubierto la existencia de un tercer tipo de fotorreceptor, las células ganglionares melanopsínicas. En los últimos 10 años es posible observar una gran cantidad de artículos destinados a la investigación y comprensión del funcionamiento, los roles y la estructura de estas células.

La presencia de estas células es importante ya que aportan gran cantidad de información única al sistema visual, desempeñando un papel fundamental en varias funciones visuales no formadoras de imágenes. El trabajo se centra, sobre todo, en el papel que estas células desempeñan en el mantenimiento y adaptación del ritmo circadiano.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general:**

Desarrollar habilidades de iniciación a la investigación planificando y realizando un trabajo de revisión bibliográfica enfocado en los diferentes tipos de células fotosensibles de la retina.

### **2.2. Objetivos particulares:**

Adquirir entrenamiento en la búsqueda y lectura crítica de artículos científicos relacionados, en este caso, con las células fotosensibles de la retina.

Comprender tanto la estructura como las funciones de las ipRGCs mediante la lectura e interpretación de diversos artículos y otras fuentes de información, profundizando en el rol que estas cumplen en relación al ritmo circadiano.

Destacar otros roles de las ipRGCs y las futuras investigaciones que se podrían realizar.

### 3. Materiales y métodos

La revisión bibliográfica se ha llevado a cabo mediante la lectura de material tomado de varias fuentes de información. En primer lugar, como base del conocimiento de los fotorreceptores, se han consultado los apartados 2 y 7 de la parte II del libro "Webvision, The Organization of the Retina and Visual System" editado por Helga Kolb, Ralph Nelson, Eduardo Fernández y Bryan Jones. De los mismos, se ha obtenido información básica sobre los tres tipos de fotorreceptores para cimentar el trabajo e informar sobre las funciones, anatomía, funcionamiento y subtipos de cada uno de ellos.

A continuación, se ha procedido a la búsqueda de artículos recientes relacionados con el tema a abordar para obtener nueva información que complemente el trabajo. Esta búsqueda se ha realizado mediante buscadores como PubMed, WOK y Google académico con las palabras clave:

- Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs).
- ipRGCs and circadian clock.

Tras una exhaustiva búsqueda de artículos se seleccionaron 3:

1. Melanopsin-Positive Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells: From Form to Function. Schmidt et al., 2011.
2. How rod, cone, and melanopsin photoreceptors come together to enlighten the mammalian circadian clock. Lucas et al., 2012.
3. Mice Deficient of Glutamatergic Signaling from Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells Exhibit Abnormal Circadian Photoentrainment. Purrier, Engelandy Kofuji, 2014.

Por último se ha realizado la memoria, donde se destacan los aspectos más importantes de este nuevo tipo de fotorreceptor, cruciales para la visión en los mamíferos, resaltando principalmente su papel e importancia en el ritmo circadiano de los mismos.

## 4. Introducción

### 4.1. Tipos de fotorreceptores retinianos

Siempre se ha creído que existían dos tipos de fotorreceptores en la retina de los mamíferos, los conos, que comprenden tres subtipos de fotorreceptores, y los bastones. Sin embargo, hacia finales de los años noventa y en la siguiente década, se ha recopilado suficiente evidencia científica para demostrar la existencia de un tercer tipo de fotorreceptor (Provencio et al., 1998; Provencio et al., 2000, Provencio et al., 2002). Estas células fotosensibles son las denominadas células ganglionares melanopsínicas, ipRGCs por sus siglas en inglés (intrinsically photosensitive retinal ganglion cells). Las ipRGCs son capaces de reaccionar a la luz gracias al fotorreceptor que contienen, la melanopsina, y su reacción es muy distinta a la de los pigmentos de los fotorreceptores tradicionales (como llamaremos a partir de este punto a los conos y los bastones). Aunque más adelante profundizaremos en el funcionamiento de las ipRGC, cabe mencionar que dentro de ellas existen distintos subtipos con diferentes funciones y anatomía.

### 4.2. Fotorreceptores tradicionales

La retina está compuesta de varias capas de neuronas pero sólo una de ellas es sensible a la luz, esta es la capa de los conos y los bastones. En los mamíferos existen tres tipos diferentes de conos y un solo tipo de bastones. En algunos animales, no mamíferos, podemos encontrar más tipos de conos.

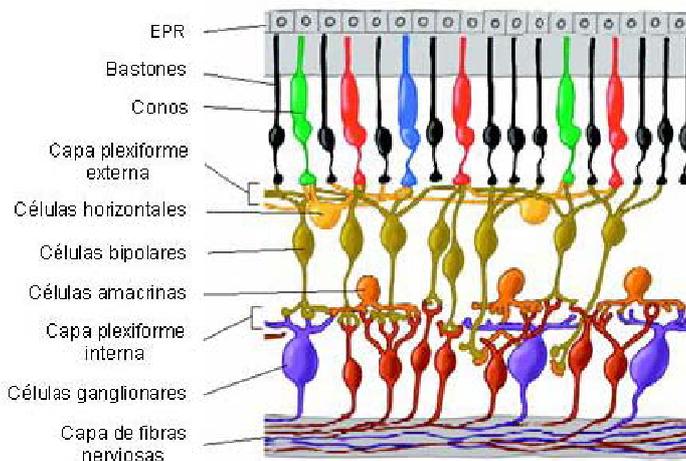
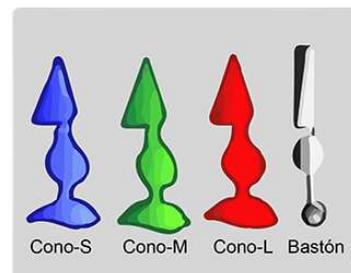


Figura 4.1. Estructura de la retina.

Los conos son estructuras conoidales que tienen cuerpos celulares situados en una sola fila debajo de la membrana limitante externa, mientras que sus segmentos interno y externo dan al espacio subretiniano, apuntando hacia el epitelio pigmentario. Este tipo de fotorreceptor se encuentra en menor proporción en la retina que los bastones y se concentra especialmente en la mácula.



Existen tres tipos, sensibles a diferentes longitudes de onda y en diferente proporción, así los más numerosos

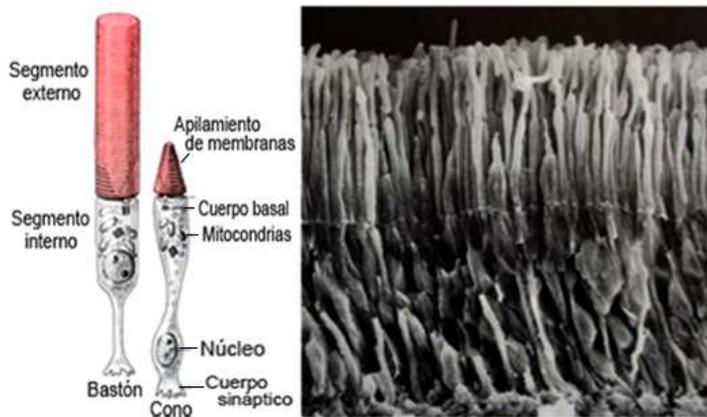
4.2. Representación de la estructura nos y bastones.

son los conos L, luego le siguen los M y por último los S, los más escasos.

Los bastones, por otra parte, como podemos observar en la *figura 4.2*, tienen una estructura delgada y cilíndrica, con segmentos internos y externos que llenan el espacio subretiniano entre los conos más grandes y que llegan hasta las células del epitelio pigmentario. Los cuerpos celulares de los bastones conforman el resto de la membrana nuclear externa bajo los cuerpos celulares de los conos.

Si observamos los conos y los bastones con un microscopio electrónico podemos observar que se componen por:

- 1) Un segmento externo, formado por apilamiento de membranas que contienen el fotorpigmento visual.
- 2) Un segmento interno que contiene mitocondrias, ribosomas y membranas, en el cual se forman las moléculas de fotorpigmento para ser luego transportadas hasta los segmentos externos.
- 3) Un cuerpo celular, que contiene el núcleo de la célula fotorreceptora.
- 4) Una terminal sináptica, desde donde se envía la información a neuronas secundarias.



**Figura 4.3.** Estructura de bastones y conos (izquierda). Imagen de ambas estructuras a través de un microscopio electrónico (derecha).

En las retinas de mamíferos, los segmentos internos y externos de los bastones son generalmente más delgados que los de los conos (Figura 4.3). Así, los segmentos internos de los conos tienen alrededor de 2 micrómetros de diámetro y los de los bastones 1.5 micrómetros. Los segmentos externos de los bastones están constituidos por discos membranosos aislados de la membrana plasmática, mientras que los de los conos se componen por múltiples pliegues de la membrana plasmática. Los segmentos internos, tanto de los conos como de los bastones, están rellenos de mitocondrias finas.

Los discos externos donde se encuentran los fotorpigmentos están en renovación constante. Periódicamente, se añaden nuevos discos a nivel del segmento interno y externo que van desplazando los discos viejos hacia el epitelio pigmentario de la retina (EPR). Durante el ciclo diurno, estos discos son fagocitados y transformados en fagosomas, proceso que comienza con la salida del sol en el caso de los bastones, y cerca de la puesta del sol en los conos.

### 4.3. Pigmentos visuales y transducción visual

La capacidad de los conos y los bastones de responder a la luz se debe al fotorpigmento que contienen en los discos que componen el segmento externo, la opsina en el caso de los conos y la rodopsina en los bastones.

La opsina responde a la luz mediante su unión a un cromóforo derivado de la vitamina A llamado retinal. Una vez unidos permanecen en las membranas de los segmentos externos, cada uno de los cuales contiene miles de moléculas de fotorpigmento. Los conos tienen tres tipos de fotorpigmentos, con sensibilidades espectrales máximas para longitudes de onda largas (rojo), medias (verde) y cortas (azul). Estos fotorreceptores son los responsables de la visión en color.

Los bastones tienen un sólo tipo de fotorpigmento con una sensibilidad espectral máxima alrededor de los 500 nm. Estos fotorreceptores son los responsables de la visión en condiciones de baja luminosidad (Figura 4.4).

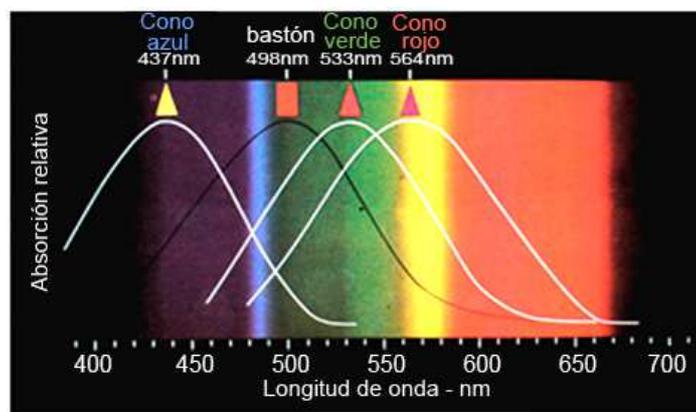


Figura 4.4. Sensibilidad espectral de los tres tipos de conos y los bastones.

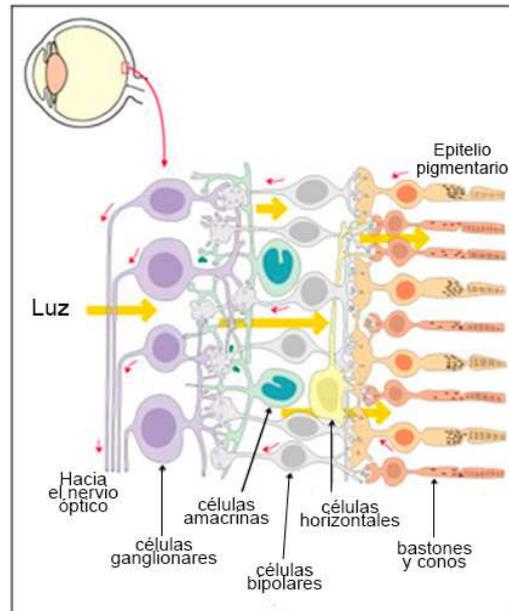
La fototransducción se produce mediante la estimulación del fotorpigmento por medio de un fotón. Esto provoca una cascada de reacciones enzimáticas y bioquímicas que resultan en el cierre de los canales catiónicos de la membrana del fotorreceptor. El potencial de membrana se hiperpolariza, causando una reducción de la cantidad de neurotransmisor liberado por el terminal del fotorreceptor hacia las neuronas postsinápticas.

### 4.4. Células ganglionares melanopsínicas (iRPGCs).

#### 4.4.1. Células ganglionares

Las células ganglionares recogen todas las señales electroquímicas generadas por los fotorreceptores para enviarlas a través del nervio óptico. Son el último intermediario de la información y, por tanto, la señal ya ha experimentado un alto grado de procesamiento, tanto en el camino vertical (del fotorreceptor a las bipolares y de estas a las ganglionares), como por las realimentaciones mediadas por las células horizontales y amacrinas (Figura 4.5).

Las células ganglionares tienen, de media, un mayor tamaño que las interneuronas que las preceden y sus axones poseen un diámetro mayor, siendo así capaces de transmitir la información a la siguiente etapa de procesamiento en forma de picos transitorios. El nervio óptico recoge los axones de las células ganglionares y este mazo, con más de un millón de axones en los humanos, pasa la información a la siguiente estación de relevo del cerebro para seleccionarla e integrarla en los canales de procesamiento.



**Figura 4.5.** Jerarquía del paso de la información en la retina.

#### 4.4.2. Células ganglionares melanopsínicas

Dentro de las células ganglionares solamente el 5% pertenecen a este grupo. La principal función de estas células es aportar información visual no formadora de imágenes, es decir, información útil para procesos tales como la constricción pupilar, la regulación neuroendocrina y la sincronización de los ritmos circadianos (ciclos de luz-oscuridad). Estudios recientes han revelado otras funciones realizadas por las células ganglionares melanopsínicas en la percepción visual consciente, como la diferenciación de luminancias y contrastes (Brown, 2012).

Hoy en día ya sabemos que la capacidad de estas células de responder a la luz se debe a un fotopigmento llamado melanopsina. Cabe remarcar que este fotopigmento se parece más al usado por los invertebrados que al que usan los vertebrados.

La respuesta de las ipRGCs a la luz difiere en gran medida de aquella de conos y bastones. Mientras que estos últimos se hiperpolarizan en respuesta a la luz, las ipRGCs se despolarizan. Por otro lado, la respuesta de las ipRGCs es mucho más lenta y duradera. Estas células son capaces de interactuar entre sí por medio de sus dendritas, creando una red fotorreceptora. Debido a que utilizan la melanopsina como fotopigmento, son especialmente sensibles a longitudes de onda cercanas a los 480 nm, mostrando una sensibilidad espectral diferente a la de conos y bastones.

#### 4.4.3. Información proporcionada por los conos y bastones



**Figura 4.6.** ipRGC vista con microscopio electrónico, con ayuda de contraste.

Aunque las ipRGCs son capaces de responder a estímulos luminosos, también reciben información de los conos y los bastones. La microscopía electrónica reveló que las ipRGCs reciben conexiones axónicas de las células amacrinas y bipolares (Figura 4.6). De este modo, las ipRGCs no sólo responden a la luz de manera directa, sino

que también lo hacen de manera indirecta, gracias a la información proporcionada por los conos y los bastones. Estas dos respuestas, sin embargo, difieren significativamente; la respuesta extrínseca es más rápida y necesita un estímulo de menor intensidad, mientras que la intrínseca es más lenta y duradera, pero necesita un estímulo mayor.

#### **4.4.4. Diversidad morfológica y fisiológica**

En la década pasada diversos estudios han demostrado la existencia de varios tipos de ipRGCs; usando técnicas de tinción con fluoresceína se descubrió la existencia de 5 tipos de ipRGCs diferentes en la retina de los ratones. El primer tipo descubierto (y que se creía el único existente) fue nombrado M1. Así, los restantes fueron nombrados M2, M3, M4 y M5. De estos tipos, la M1 es la única que se estratifica exclusivamente en el EPR (Schmidt y Kofuji, 2009).

Los cinco tipos de ipRGCs manifiestan diferentes propiedades morfológicas, sugiriendo que realizan funciones distintas. Tanto en ratones como en ratas los diferentes tipos de ipRGCs tienen su pico de actividad a diferentes frecuencias. Estas células también tienen grandes diferencias biofísicas entre ellas, tanto en la resistencia electroquímica de sus membranas como en los potenciales de la misma y su capacitancia. En condiciones de oscuridad, los cinco tipos de ipRGCs responden de manera similar, sin embargo, bajo condiciones de luz, las M1 y M2 responden de maneras significativamente diferentes, produciendo una respuesta más breve y de menor amplitud. Comparando la intensidad de respuesta a estímulos luminosos estáticos y en movimiento, los cinco tipos de ipRGCs evidencian una respuesta de mayor intensidad para estos últimos, sin embargo, cada tipo de ipRGC parece estar especializada en diferentes velocidades de movimiento.

#### **4.4.5. Adaptación, neuromodulación y regulación del ritmo circadiano**

Se ha encontrado que cuando las ipRGCs se exponen a niveles de luz ambiente cercanos a los que producen su saturación, estas células se desensibilizan progresivamente, (Berson et al., 2008). Cuando se las deja un tiempo en oscuridad y luego se les proyectan pulsos de luz, sus respuestas son mayores que antes de este tiempo de espera, indicando una adaptación a la oscuridad por parte de estas células. Estos procesos de adaptación a la iluminación y a la oscuridad son comunes a todos los fotorreceptores de la retina, aun utilizando fotorreceptores y cascadas de transducción fotoquímica diferentes, (Do y Yau, 2013).

#### **4.4.6. Función de las ipRGCs: aspectos conductuales**

Los ritmos fisiológicos y conductuales de los mamíferos, llamados de forma colectiva circadianos, son controlados por un pequeño grupo de células en el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo. Entre otras funciones, este control ayuda al organismo a llevar horarios de sueño y vigilia, así como a regular cambios en la temperatura corporal. Sin embargo, este “reloj” no tiene un horario de 24 horas perfecto y necesita ser ajustado periódicamente para que los ritmos circadianos estén sincronizados al ciclo de luz/oscuridad. La principal señal para este ajuste es la luz, acción en la que intervienen mayormente las ipRGCs. Animales modificados genéticamente para no tener melanopsina presentan ritmos circadianos relativamente

normales y no muestran ninguna otra disfunción en la adaptación a la luz. Sin embargo, ante estímulos luminosos, presentan cambios de fase en los ritmos circadianos mucho menores que los evidenciados por animales con melanopsina, lo que revela el importante papel de las señales provenientes de la melanopsina sobre esta función, (Panda et al., 2002; Ruby et al., 2002). Debido a que las ipRGCs siguen siendo fotosensibles incluso en ausencia de conos y bastones, algunos ratones sin conos ni bastones, así como algunos pacientes ciegos, siguen teniendo respuestas visuales no formadoras de imágenes (Czeisler et al., 1995; Lucas et al., 1999; Zaidi et al., 2007).

Además, cada vez hay más evidencia de que la melanopsina contribuye a la percepción visual, mediada probablemente por las proyecciones de las ipRGCs al NGL al colículo superior (CS) (Brown et al., 2010; Dacey et al., 2005; Ecker et al., 2010; Estevez et al., 2012; Zhao et al., 2014). Algunos pacientes ciegos con degeneración retiniana severa pero con ipRGCs relativamente normales fueron capaces de detectar la presencia de luz azul intensa, (Zaidi et al., 2007); y humanos y ratones con la visión intacta parecen depender parcialmente de la melanopsina para la discriminación del brillo (Brown et al., 2012).

En otro estudio (Ecker et al., 2010), ratones sin conos ni bastones fueron capaces de distinguir una pantalla de ordenador que mostraba líneas blancas y negras de una que tenía la misma intensidad media pero era completamente gris, sugiriendo que la melanopsina es suficiente para un pequeño grado de visión de patrones. Recientemente, también se ha informado que ratones sin melanopsina presentan una menor sensibilidad al contraste, (Schmidt et al., 2014), y hay evidencia psicofísica preliminar de que la melanopsina participa también en la visión en color, desafiando la teoría tricromática (Horiguchi et al., 2013).

#### **4.4.7. Papel en el desarrollo**

La expresión de la melanopsina comienza antes del nacimiento y las ipRGCs empiezan a ser fotosensibles antes que los conos y los bastones (Sekaran et al., 2005; Tu et al., 2005). Una de las funciones de este desarrollo tan precoz es la fototaxia negativa, que hace que ratones de incluso seis días de vida eviten la luz brillante. La melanopsina también parece tener un papel en el desarrollo temprano de las neuronas retinianas, los vasos retinianos y los circuitos retinoculados.

## **5. Desarrollo: Análisis de los artículos científicos seleccionados**

### **5.1. Descubrimiento**

El descubrimiento de estos fotorreceptores fue motivado por la necesidad de explicar la conservación del ritmo circadiano en pacientes ciegos y ratones sin fotorreceptores tradicionales. Fueron descubiertos por primera vez en 2002 (Berson et al. 2002) y reconocidos como un tercer tipo de fotorreceptor. Son importantes, como ya se ha dicho, no sólo para la regulación del ritmo circadiano, sino también para la respuesta pupilar a la luz (PLR) y los ciclos de sueño/vigilia.

La respuesta intrínseca a la luz de estos fotorreceptores es proporcionada por la melanopsina, que fue estudiada (e incluso clonada) en los años 90; posteriormente se descubrió su función en las ipRGCs.

Se pensaba que estas células sólo eran detectoras de irradiancia, es decir, que enviaban información a numerosas regiones cerebrales que se encargan de procesar la información visual que no forma imágenes. Sin embargo, se ha observado que las ipRGCs integran su información con la de los conos y los bastones para influenciar comportamientos que dependen de la luz.

### **5.2. Funciones y proyecciones centrales**

En los mamíferos, el ajuste al ciclo de iluminación diurna (fotosincronización) ocurre en la retina con la participación de una proyección particular del nervio óptico denominada tracto retinohipotalámico (RHT), que lleva la información al SCN.

La idea convencional sobre la función retiniana es que toda la información visual se origina en los conos y los bastones. La información que producen estos fotorreceptores pasa a través del circuito retiniano antes de llegar a las células ganglionares. Sin embargo, a lo largo de la última década, se ha demostrado que las ipRGCs también aportan información visual (Berson et al., 2002). A pesar de su escasez relativa en la retina, estas células dominan el RHT y, por lo tanto, representarían la ruta principal por la que la información luminosa llega al reloj circadiano.

Las ipRGCs reciben información sináptica de los conos y los bastones en la retina. Como resultado, la respuesta fisiológica a la luz de estas células es producto de su mecanismo de fototransducción interno y de las influencias externas producidas por los conos y bastones. Esta información es enviada a numerosas partes del cerebro relacionadas tanto con la visión formadora de imágenes como con aquella que no las forma (Gooley et al., 2003; Brown et al., 2010).

Mediante la utilización de ratones transgénicos en los que las ipRGCs expresaban la enzima  $\beta$ -galactosa, Hattar et al. (2006) identificaron los axones de las células tipo M1 y caracterizaron sus proyecciones en el cerebro. Encontraron que enviaban proyecciones al SCN, al fascículo intergeniculado y al núcleo olivar pretectal (OPN). Los dos primeros controlan el ritmo circadiano mientras que el último media la respuesta pupilar.

En el mismo estudio se descubrieron otras zonas centrales de recepción axonal de estas células. Dentro del hipotálamo, las células M1 envían axones a la porción ventral de la zona subparaventricular, una región que controla el sistema nervioso autónomo. Un número de fibras dispersas llegan a las zonas preópticas, que influyen en la segregación de hormonas de la pituitaria. Todo esto sugiere que las ipRGCs M1 controlan diversas funciones visuales no formadoras de imágenes.

Más recientemente, otros autores (Dacey et al., 2005; Hannibal et al., 2014) han hallado algunos axones llegando también a la división dorsal del núcleo geniculado lateral (NGL), que es el primer relevo del tálamo en el camino de la información visual hacia el cortex, y al colículo superior (CS), un núcleo sensorial y motor que detecta estímulos visuales. Estos descubrimientos sugieren que, además de sus ya mencionadas funciones en la regulación de reflejos visuales subconscientes, las ipRGCs podrían contribuir a la percepción visual consciente.

En la actualidad, hay pruebas experimentales convincentes de que las ipRGCs intervienen en la modulación de diferentes funciones como el ritmo circadiano, la PLR, los ciclos sueño/vigilia y los sistemas neuroendocrinos, influyendo también en comportamientos relacionados con la ansiedad y la aversión a la luz, e incluso contribuyendo de manera significativa a la función visual talamocortical (Güller et al., 2008; Thomson et al., 2010).

Se ha informado de casos de pacientes ciegos con alodinia a la luz (fotofobia) (Amini et al., 2006), sugiriendo la participación de las ipRGCs. La aversión a la luz provocada por la administración de morfina, sin embargo, sólo la experimentan aquellos pacientes con conos y bastones funcionales (Matynia y Gorin, resultados no publicados). Esto lleva a la conclusión de la existencia de dos vías de fotofobia, bajo condiciones normales (ipRGCs) y bajo condiciones patológicas (conos y bastones).

### 5.3. Tipos de ipRGCs

Inicialmente se creía que se componían de un solo tipo de células. Los primeros estudios describen las dendritas de las ipRGCs cubriendo la retina y formando una "red fotorreceptora" (Provencio et al., 2002). Estudios posteriores han demostrado que estas células que forman un mosaico con las dendritas cubriendo la retina poseen dos subtipos, mientras que un tercer subtipo no forma mosaico (Berson et al., 2010; Schmidt y Kofuji, 2010). Más recientemente se ha demostrado que existen hasta 5 subtipos de ipRGCs con diferente morfología dendrítica y proyecciones axonales (Vugler et al., 2007; Zang et al., 2008; Müller et al., 2010). Estos subtipos fueron denominados M1, M2, M3, M4 y M5 (figura 5.1).

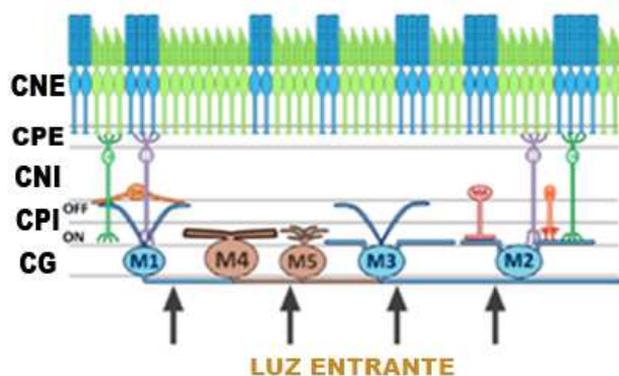


Figura 5.1. Representación esquemática de la morfología de los cinco tipos de ipRGCs

Existen células ganglionares ON y OFF. Las ON reciben información de las células bipolares ON (respuesta a un incremento de luz) y viceversa (respuesta al descenso de luz). Al estudiar los 3 subtipos de ipRGCs conocidos hasta ese momento, se vio que las denominadas M1 reciben información OFF, las M2 ON y las M3 reciben información de ambos tipos (Schmidt et al, 2008).

Morfológicamente, las células M2 tienen un árbol dendrítico más complejo y grande, con somas también mayores que los de las células M1. Las M3 revelaron características morfológicas similares a las de las M2 (Schmidt y Kofuji, 2009). Desde entonces se han identificado los subtipos ON-M4, con los somas y árboles dendríticos más grandes de todos, y las ON-M5, con árboles dendríticos pequeños y poblados.

En cuanto a las propiedades funcionales, las M1 tienen una mayor sensibilidad intrínseca a la luz que las M2 (Schmidt y Kofuji, 2009). Las M3 tienen características intermedias entre las M1 y las M2, más cercanas a estas últimas, lo que llevó a preguntarse si las M3 eran células "híbridas" de las anteriores que no se habían desarrollado (Schmidt y Kofuji, 2011). La densidad de melanopsina es mayor en las M1 y, por lo tanto, son más fotosensibles que las M2 o M3.

### **5.3.1. Función principal de las ipRGCs tipo M1 y las no-M1**

Los bastones parecen proporcionar gran parte de la información requerida para la regulación del ritmo circadiano, mientras que los conos aportan una parte importante de la información para la PLR (Altimus et al., 2010; Lall et al., 2010). Esto permite plantear la posibilidad de que las células M1 que envían información al OPN son diferentes de las que la envían al SCN, pudiendo haber un subtipo dentro de las M1 (Lall et al., 2010).

Finalmente se demostró la existencia de estos subtipos en los que las células M1 que mediaban el ritmo circadiano estaban fuertemente influenciadas por la información proporcionada por los bastones, mientras que las que eran responsables de la respuesta pupilar lo estaban por los conos (Chen et al., 2011).

En relación a las ipRGCs que no pertenecen al grupo de las M1, es más probable que emitan información en función del estímulo proporcionado por los conos y los bastones que por la fotorrecepción de la melanopsina. Estas ipRGCs podrían participar en la formación de imágenes a partir de proyecciones hacia el NGL, presentando, además, proyecciones en muchas otras regiones (Ecker et al., 2010).

### **5.4. Ritmo circadiano: papel de cada fotorreceptor**

En el SCN del hipotálamo es donde se encuentra el marcapasos central del ritmo circadiano, que regula varios osciladores circadianos en tejidos periféricos. La interacción del oscilador central del SCN y de osciladores periféricos genera ritmos coherentes de 24 horas de temperatura, secreción hormonal, ciclos de sueño/vigilia y funciones cardiovasculares. Las señales neuroquímicas de la retina proporcionan toda la información luminosa necesaria para que el SCN regule el ciclo de luz/oscuridad. Ninguna variable proporciona una indicación más fiable sobre la hora del día que la iluminación ambiental.

#### **5.4.1. Métodos de estudio**

Varios estudios han abordado ya la pregunta de bajo qué circunstancias y hasta qué punto la fotorregulación circadiana depende de cada tipo de fotorreceptor. Estos han valorado en ratones el ajuste circadiano a un periodo de luz constante o de oscuridad constante. Sin embargo, como estos estudios se basan en la medida final, no permiten la lectura en tiempo real de la respuesta a la luz del reloj circadiano. Para solventar este problema, se han realizado registros electrofisiológicos de los cambios provocados por la luz en la tasa de disparo de los potenciales neuronales del SCN. Estos experimentos muestran, en tiempo real, la respuesta del hipotálamo a la luz y, por tanto, describen la naturaleza dinámica de la información lumínica que llega al núcleo supraquiasmático. Sin embargo, su relevancia para la fotorregulación circadiana es menos obvia.

Se ha demostrado que la fotorregulación circadiana sigue intacta incluso tras la pérdida masiva de conos y bastones, hecho que fundamenta la participación en este proceso de otro tipo de fotorreceptor distinto de los conos y los bastones. Sin embargo, para definir la función de cada uno de los fotorreceptores en un sistema visual normal han sido necesarias nuevas estrategias. La eficiencia con la que los ftopigmentos absorben fotones está relacionada con la longitud de onda de los mismos. La estrategia utilizada es la basada en la sensibilidad espectral, en la que se comparan las sensibilidades espectrales de cada fotorreceptor con la intensidad de las respuestas evocadas a distintas longitudes de onda, para relacionar cada fotorreceptor con una respuesta específica del reloj. Esta estrategia ha sido utilizada para identificar la influencia de los conos y los bastones en la tasa de disparo de los potenciales en el SCN, con el objetivo de demostrar que la fotorregulación circadiana en ratones sin conos ni bastones se sustenta sobre la melanopsina.

Un desafío a la hora de adoptar la estrategia basada en la sensibilidad espectral es que las diferencias entre las curvas de la melanopsina, la rodopsina y la M-opsina son muy pequeñas. Esta limitación, sin embargo, puede ser superada usando técnicas genéticas para cambiar la sensibilidad espectral de los fotorreceptores de los ratones, logrando, por ejemplo, que los conos que normalmente expresan la M-opsina expresen la L-opsina. Finalmente, utilizando esta alternativa, la descripción detallada de las respuestas a estímulos de longitudes de onda medias y largas ha permitido identificar aspectos de la respuesta del reloj circadiano atribuibles a cada uno de los tipos de fotorreceptores.

#### **5.4.2. Dependencia de bastones**

Como los bastones son los más sensibles de todos los fotoreceptores de la retina, tendría sentido que fueran estos los que proporcionaran la alta sensibilidad al reloj circadiano.

Evaluando esta hipótesis utilizando el paradigma de oscuridad constante, los autores encontraron que incluso la luz muy tenue influye en el reloj circadiano. La dependencia del reloj circadiano con los bastones, sin embargo, no está restringida a niveles tenues de luz. Se ha demostrado que “ratones sólo con bastones” se sincronizan de manera adecuada a ciclos de luz-oscuridad en los que el período de iluminación se corresponde con niveles de iluminación elevados, confirmando que el

reloj circadiano puede emplear a los bastones para distinguir luz de oscuridad bajo tales condiciones.

Esto indica que los cambios en la actividad del RHT mediados por los bastones pueden ser más bien escasos, no obstante, suficientes para reclutar los mecanismos de sincronización.

#### **5.4.3. Inconstancia de conos**

Aunque los bastones parecen definir las respuestas circadianas, incluso a intensidades de iluminación moderadas, es esperable que se saturen en algún momento.

Los conos, por el contrario, pueden funcionar en niveles de iluminación muy elevados. ¿Podrían ellos entonces compensar la saturación de los bastones en el RHT?

La fotosincronización circadiana está prácticamente intacta tras una degradación importante de los conos, mientras que “ratones solo con conos” fallan en la sincronización de los ciclos de luz-oscuridad. Estos datos indican entonces que los conos no son ni necesarios ni suficientes para la fotosincronización circadiana.

No obstante, estudios anatómicos y electrofisiológicos indican que las señales de los conos alcanzan el tipo M1 de las ipRGCS, responsable de la sincronización.

La evidencia disponible a partir de los experimentos realizados en roedores indican que aunque los conos son un mediador de la sincronización menos fiable que los bastones, pueden tener una importante influencia en el reloj circadiano. Los resultados de los experimentos muestran que la influencia de los conos es especialmente significativa en las respuestas circadianas relacionadas con uno o más incrementos repentinos en la irradiancia, es decir, la mayor influencia se da con estímulos luminosos transitorios en lugar de exposiciones estacionarias de larga duración.

#### **5.4.4 Melanopsina**

Si los conos aportan al reloj circadiano una influencia tan poco confiable, ¿qué fotorreceptor informa al SCN cuán luminoso es el mundo bajo las condiciones de iluminación en la que los bastones están saturados?

Aunque la melanopsina es el menos sensible de los tres tipos de fotopigmentos de la retina, hay poca evidencia directa de que la fotosincronización circadiana en los ratones dependa de ella.

A la vista del alto umbral de fototransducción de la melanopsina, cabría esperar que la contribución de esta a la sincronización fuera más evidente en paradigmas mejor preparados para medir aspectos de baja sensibilidad de la respuesta del reloj circadiano (Do et al., 2009). La dependencia del reloj circadiano con la melanopsina a irradiancias elevadas es, sin embargo, evidente en datos electrofisiológicos a nivel del SCN.

El argumento de que la melanopsina hace una contribución mayor para estímulos luminosos de larga duración y alta intensidad es apoyado por datos obtenidos de ratones sin melanopsina y por datos fisiológicos de las ipRGCs (Mure et al., 2007).

#### **5.4.5. Sensibilidad de la melanopsina a diferentes frecuencias temporales**

La habilidad de la melanopsina para seguir patrones dinámicos de intensidad de luz permanece, en gran medida, inexplorada.

La ausencia de entrada de información proveniente de bastones y conos modifica el tiempo de respuesta de las ipRGC, retrasando decenas de segundos la percepción del encendido y apagado de pulsos de luz. En este sentido, cabe preguntarse si la respuesta de la melanopsina tiene preferencias ante diferentes frecuencias de modulación de la irradiancia de estimulación.

Los datos que se tienen favorecen la conclusión de que, en la mayoría de los casos, la adaptación de la melanopsina a la luz no sesga en demasía la respuesta del reloj circadiano hacia los cambios de alta frecuencia en la luminosidad del estímulo. De acuerdo con este punto de vista, la consecuencia más importante de la adaptación es la extensión del rango de sensibilidad de la melanopsina.

#### **5.4.6. Conclusiones**

Los datos anatómicos y psicofísicos comentados anteriormente sugieren una separación relativamente simple en las contribuciones de los bastones, los conos y la melanopsina al proceso de fotosincronización circadiana.

La medida más valiosa de las influencias retinianas al reloj circadiano proviene de los datos electrofisiológicos a nivel del SCN. La combinación de una respuesta transitoria relacionada con los conos, junto con la respuesta sostenida dependiente de la melanopsina, implica que los conos aportarán información sobre cambios de alta frecuencia en los perfiles de estimulación, mientras que las células melanopsínicas aportarán información sobre cambios de baja frecuencia. De acuerdo con este punto de vista, la señal a nivel del SCN en un animal expuesto a un perfil de estimulación con irradiancias variables constará de una serie de respuestas transitorias, derivadas de los conos excitados, superpuestas con unas respuestas graduales, dependientes de la melanopsina. En resumen, los conos codifican los cambios rápidos en la intensidad de la luz, dejando a los bastones y a la melanopsina seguir las modulaciones más graduales bajo estímulos luminosos tenues y más brillantes respectivamente.

### **5.5. Papel del glutamato en la regulación del ritmo circadiano**

Durante el proceso de ajuste del ritmo circadiano mediado por la luz que tiene lugar en el SCN, la luz despolariza las células ganglionares melanopsínicas (ipRGCs) por medio de la fototransducción de la melanopsina y de otras señales de la retina externa. Las ipRGCs liberan entonces desde sus terminales sinápticas los neurotransmisores glutamato y el polipéptido de la adenilato ciclasa de la pituitaria (PACAP). La neurotransmisión de las células ganglionares retinianas mediada por el

glutamato (neurotransmisión glutamatérgica), incluyendo las ipRGCs, es dependiente del depósito de glutamato en las vesículas sinápticas, realizado por el transportador de glutamato vesicular 2 (VGLUT2). El transportador de glutamato vesicular 1 (VGLUT1) y el transportador de glutamato vesicular 3 (VGLUT3) también se expresan en la retina, pero lo hacen en otras neuronas glutamatérgicas. Se ha reportado que ratones con ablación genética del VGLUT1 tienen afectada la señalización neuroquímica de los conos y los bastones hacia la retina interna, mientras que el ritmo circadiano y la respuesta pupilar no están afectados.

Se encontró que la supresión de la expresión de VGLUT2 en las ipRGC, aunque sin eliminarlo, perjudica profundamente el ajuste del ritmo circadiano mediado por la luz, así como también las respuestas a la luz con enmascaramiento negativo y la respuesta pupilar a la luz (PLR). Además, algunos ratones mutantes tenían la actividad locomotora circadiana disminuida, con picos de actividad en todos los puntos del ritmo circadiano. Estos descubrimientos sugieren un papel no redundante del glutamato y el PACAP en las ipRGC para varias funciones visuales no formadores de imágenes.

### **5.5.1. Resultados**

Para examinar el papel de la fototransducción glutamatérgica de las ipRGC en el ritmo circadiano y otras funciones visuales no formadoras de imágenes, se utilizaron ratones a los que les realizó la ablación selectiva del VGLUT2 en las ipRGCs. A estos ratones sin VGLUT2 nos referiremos de aquí en adelante como Vglut2-cKO.

En estos ratones, las ipRGCs estimulaban las áreas del cerebro esperadas y el SCN no presentaba anomalías estructurales. La morfología de las capas de la retina de los ratones Vglut2-cKO y la de las de los ratones de control era similar.

#### **- *El ritmo circadiano está interrumpido en los ratones Vglut2-cKO***

Primero se analizaron las características de la actividad circadiana de los ratones control y de los Vglut2-cKO. El patrón general de actividad en un régimen LD 12:12 (ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad) fue similar en ambos genotipos, con episodios de actividad cuando se apagaban las luces. Sin embargo, algunos de los ratones Vglut2-cKO mostraron un patrón de actividad más irregular.

Para evidenciar la actividad locomotora circadiana endógena, los ratones fueron transferidos a condiciones de oscuridad constante DD. El patrón general de actividad en estas condiciones fue también parecido en ambos genotipos. Sin embargo, igual que en condiciones de LD, algunos ratones mostraron picos irregulares de actividad en todas las fases del tiempo circadiano.

En conjunto, los ratones Vglut2-cKO mostraron una tendencia a un ritmo circadiano más variable que los ratones del grupo control en condiciones de DD, aunque la amplitud de las diferencias no llegó a un nivel estadísticamente significativo.

Los problemas en el ajuste del ritmo circadiano de los ratones Vglut2-cKO fue también reflejado en las dificultades para reajustar el denominado "jet lag" causado por

el avance o retraso de 6 horas de los ciclos. En los ratones control, el proceso de reajuste al ciclo de LD se realizó en  $2.0 \pm 0.6$  días, mientras que en los ratones Vglut2-cKO el mismo proceso llevó  $6.8 \pm 0.5$  días.

Para evaluar con más detalle el proceso de ajuste del ritmo circadiano, los ratones fueron sometidos a pulsos de luz de 1 hora de duración, en tandas separadas por 11 horas, para simular la exposición a la luz del amanecer y atardecer en los animales nocturnos. Bajo estas circunstancias, se esperaba que la actividad se consolidara en uno de los dos ciclos de oscuridad entre los pulsos de luz. En efecto, los ratones control restringían su actividad a uno de los periodos de oscuridad. Los ratones Vglut2-cKO, sin embargo, mostraron patrones de actividad variable, con gran actividad locomotora en ambos periodos de oscuridad.

- ***La respuesta pupilar a la luz (PLR) y las respuestas a la luz con enmascaramiento negativo están disminuidas en los ratones Vglut2-cKO***

Debido a la ausencia de señalización glutamatérgica rápida en las ipRGCs de estos ratones Vglut2-cKO, se esperaba que las funciones visuales no formadoras de imágenes, como la PLR y las respuestas a la luz con enmascaramiento negativo, se vieran debilitadas. Para comprobar esto, primero se midieron los PLR de estos ratones con dos intensidades luminosas diferentes. La PLR fue evocada mediante un estímulo de luz blanca de 20 segundos de duración. En los ratones del grupo control, el área pupilar tras la constricción ante un estímulo de intensidad alta fue de un 8%, mientras que para un estímulo de intensidad baja fue del 46% (en comparación a las condiciones previas al estímulo). Sin embargo, los ratones Vglut2-cKO mostraron una respuesta pupilar atenuada. Para estímulos de intensidad alta, el área pupilar tras la constricción fue solamente de un 78%, mientras que para estímulos de baja intensidad fue del 86%.

Diseñando un experimento que permitiera evaluar el enmascaramiento negativo, los autores encontraron que mientras los ratones del grupo control sólo mostraban patrones de actividad durante el periodo de oscuridad, los ratones Vglut2-cKO mostraban actividad tanto en los periodos de luz como de oscuridad, evidenciando un deterioro en las respuestas a la luz con enmascaramiento negativo.

### **5.5.2. Discusión**

El fenotipo observado en este estudio es diferente al de aquellos estudios en los que se recurrió a la ablación genética de las ipRGCs, en los cuales las respuestas a la luz no formadoras de imágenes estaban prácticamente ausentes. En este estudio, sin embargo, las respuestas están disminuidas pero no ausentes, lo que parece indicar que en los ratones Vglut2-cKO existe una señalización residual de las ipRGCs, probablemente debido a la liberación del neurotransmisor PACAP. Hay cada vez mayor evidencia de que el PACAP y el glutamato tienen una actividad sinérgica en la vía luminosa de ajuste circadiano que va de la retina al SCN.

## 6. Discusión y conclusiones

### 6.1. Conclusiones generales

Se ha adquirido entrenamiento en la búsqueda y organización de la información necesaria para realizar un trabajo de revisión bibliográfica.

A partir de la información sobre los distintos tipos de fotorreceptores de la retina, se ha profundizado en sus características, haciendo especial hincapié en como las ipRGCs complementan a conos y bastones.

Tras la revisión de los artículos científicos seleccionados, así como del material bibliográfico adicional sobre las ipRGCs, se han comprendido sus funciones, estructura e importancia en el sistema visual.

### 6.2. Conclusiones particulares

Las ipRGCs han adquirido una gran importancia en un periodo de tiempo muy corto. Se han descubierto 5 subtipos diferentes de estas células con diferentes morfologías y funciones. Las funciones que realizan estas células son muy diversas e importantes tanto para la información visual no formadora de imágenes como para la información consciente, sin embargo, el papel más importante de estas células es el que realizan en el ritmo circadiano. Las ipRGCs son imprescindibles para mantener un ritmo circadiano constante y óptimo.

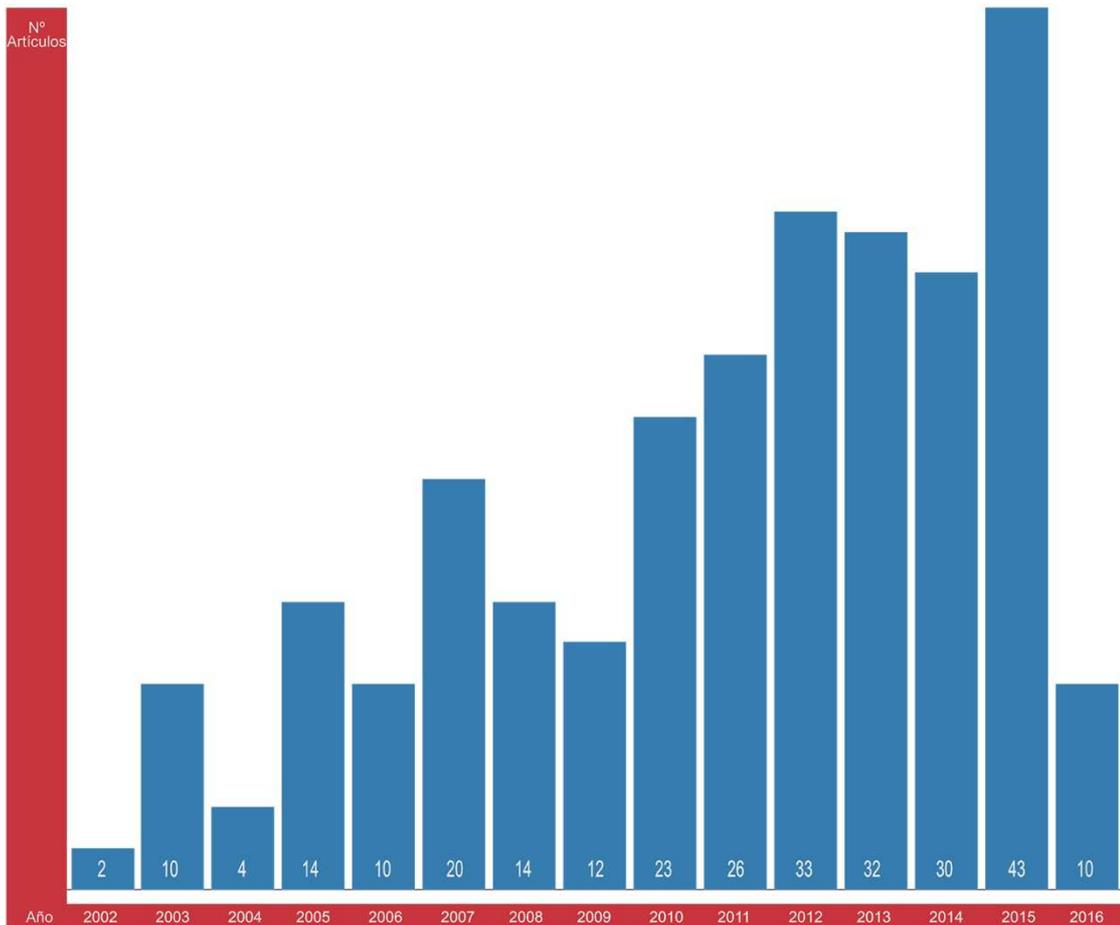
Como hemos visto, algunos pacientes ciegos sin conos ni bastones y, por tanto, sin información visual consciente, conservan el ritmo circadiano y son capaces de distinguir algunos tipos de contraste gracias a las ipRGCs. Sería preciso investigar este concepto en profundidad, ya que en él podría residir una clave para ayudar a estos pacientes a tener una percepción visual mayor.

Por otro lado, en cuanto al papel del glutamato y del PACAP en la neurotransmisión, se podría realizar otro estudio en el que se eliminaran ambos neurotransmisores. De esta manera, se podría comprobar la existencia de información residual de las ipRGCs hacia el SCN por un camino alternativo. Si no hubiera información residual, se confirmaría que las sinapsis mediadas por el glutamato y el PACAP constituyen las únicas vías para que las señales provenientes de las ipRGCs alcancen el SCN. Por el contrario, si existiera información residual, habría que seguir profundizando en este aspecto.

A pesar de todos estos descubrimientos, el estudio de las ipRGCs es aún un área muy nueva e inexplorada de la que, seguramente, se puede aprender mucho todavía. Para esto, es preciso ahondar en los conceptos ya estudiados y ampliarlos a través de nuevas líneas de investigación.

## 7. Evolución temporal de la cantidad de artículos sobre las ipRGCs.

Los primeros artículos que podemos ver sobre las ipRGCs aparecen en el 2002 con solamente 2 artículos a lo largo de ese año. Sin embargo, el número de artículos dedicados a este tema va aumentando a lo largo de los años de manera significativa, con hasta 43 artículos dedicados a estos fotorreceptores en el año 2015.



## 8. Bibliografía

1. Kolb. H. Part II: " Anatomy and Physiology of the retina", *Photoreceptors*, in *Web Vision. The organization of the retina and visual system*, H. Kolb, R. Nelson, E. Fernández y B. W. Jones (eds), John Moran Eye Center. University of Utah. <http://webvision.med.utah.edu/>
2. Graham. D and Wong. K. Part II: " Anatomy and Physiology of the retina", *Melanopsin-expressing, Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells (ipRGCs)*, in *Web Vision. The organization of the retina and visual system*, H. Kolb, R. Nelson, E. Fernández y B. W. Jones (eds), John Moran Eye Center. University of Utah. <http://webvision.med.utah.edu/>
3. Schmidt, M.T. et al. 2011. Melanopsin-Positive Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells: From Form to Function. *Journal of neuroscience*, November 9, 2001 - 31(45):16094-16101
4. Kalsbeek, A, Meroow, M, Roenneberg, T and How, R.G. rod, cone, and melanopsin photoreceptors come together to enlighten the mammalian circadian clock. Robert J. Lucas et al. 2012. Foster (Eds), *Progress in Brain Research*, Vol. 199. ISSN: 0079-6123
5. Engeland.W.C y Kofuji. P, 2014. Mice Deficient of Glutamatergic Signaling from Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells Exhibit Abnormal Circadian Photoentrainment. Purrier, *PLOS ONE*, October 2014, Volume 9, Issue 10- e111449.
6. Güler AD<sup>1</sup>, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, Barnard AR, Cahill H, Badea TC, Zhao H, Hankins MW, Berson DM, Lucas RJ, Yau KW, Hattar S. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature*. 2008 May 1;453(7191):102-5. doi: 10.1038/nature06829. Epub 2008 Apr 23.
7. Amini A, Digre K, Couldwell WT (2006). Melanopsin regulates visual pathways. Case report. *JNeurosurg* 105:765-768
8. Berson DM, Dunn FA. et al. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*. 2002;295(5557):1070-3
9. Berson, DM, Castrucci AM and Provencio I (2010) Morphology and mosaics of melanopsin-expressing retinal ganglion cell types in mice. *J Comp. Neurol*. 518, 2405-2522
10. Brown TM, Gias C, Hatori M, Keding SR, Semo M, Coffey PJ, Gigg J, Piggins HD, Panda S, and Lucas RJ. Melanopsin contributions to irradiance coding in the thalamo-cortical visual system. *PLoS Biol* 8: e1000558, 2010
11. Brown. R.E, Basheer, R, McKenna, J.T, Strecker, R.E, McCarley,R.W. Control of Sleep and Wakefulness Physiological Reviews Published 1 July 2012 Vol. 92 no. 3, 1087-1187 DOI: 10.1152/physrev.00032.2011
12. Chen SK, Badea TC, Hattar S. Photoentrainment and pupillary light reflex are mediated by distinct populations of ipRGCs. *Nature*. 2011
13. Czeisler CA, Shanahan TL, Klerman EB, Martens H, Brotman DJ, Emens JS, Klein T, and Rizzo JF, 3rd. Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *N Engl J Med* 332: 6-11, 1995
14. Dacey DM, Liao HW. et al. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*.2005;433(7027):749-54
15. Do MT, Kang SH, Xue T, Zhong H, Liao HW, Bergles DE, and Yau KW. Photon capture and signalling by melanopsin retinal ganglion cells. *Nature* 457: 281-287, 2009
16. Do MT, and Yau KW. Adaptation to steady light by intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 7470-7475, 2013
17. Ecker JL, Dumitrescu ON, Wong KY, Alum NM, Chen SK, LGates, T, renna JM, Prusky GT, Berson DM and Hattar S (2010) Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron* 67, 49-60
18. Estevez ME, Fogerson PM, Ilardi MC, Borghuis BG, Chan E, Weng S, Auferkorte ON, Demb JB, and Berson DM. Form and function of the M4 cell, an intrinsically photosensitive retinal ganglion cell type contributing to geniculocortical vision. *J Neurosci* 32: 13608-13620, 2012
19. Gooley,J.J, Lu, J, Fischer, D, and Saper, C.B. A Broad Role for Melanopsin in Nonvisual Photoreception. Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, Massachusetts 02215, and Program in Neuroscience, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115, and Laboratories in Neuroscience Research in Neurosurgery, Children's Hospital, Boston, Massachusetts 02115
20. Guler AD, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, Barnard AR, Cahill H, Badea TC, Zhao H, Hankins MW, Berson DM, Lucas RJ, Yau KW, and Hattar S. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 453: 102-105, 2008.
21. Hannibal J, Kankipati L, Strang CE, Peterson BB, Dacey D, and Gamlin PD. Central projections of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 522: 2231-2248, 2014
22. Hattar S, Kumar M. et al. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion

- cells in the mouse. *J Comp Neurol*. 2006;497(3):326–49
23. Horiguchi H, Winawer J, Dougherty RF, and Wandell BA. Human trichromacy revisited. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E260-269, 2013
  24. Lall GS, Revell VL, Momiji H, Al Enezi J, Altimus CM, Guler AD, Aguilar C, Cameron MA, Allender S, Hankins MW, and Lucas RJ. Distinct contributions of rod, cone, and melanopsin photoreceptors to encoding irradiance. *Neuron* 66: 417-428, 2010
  25. Lucas RJ, Freedman MS. et al. Regulation of the mammalian pineal by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science*. 1999;284(5413):5 05–7
  26. Muller LP, Do MT, Yau KW, He S, and Baldrige WH. Tracer coupling of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells to amacrine cells in the mouse retina. *J Comp Neurol* 518: 4813-4824, 2010
  27. Mure LS<sup>1</sup>, Rieux C, Hattar S, Cooper HM. Melanopsin-dependent nonvisual responses: evidence for photopigment bistability in vivo. *J Biol Rhythms*. 2007 Oct;22(5):411-24.
  28. Panda S, Sato TK. et al. Melanopsin (Opn4) requirement for normal light-induced circadian phase shifting. *Science*. 2002;298(5601):2213–6
  29. Provencio I , Jiang G , De Grip WJ , Hayes WP , Rollag MD. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 6 de enero de 1998; 95 (1): 340-5.
  30. Provencio, I, Rodriguez, I, Jiang, G, Hayes, W, Moreira, E, Novel Human Opsin in the Inner Retina, Rollag1 *The Journal of Neuroscience*, 15 January 2000, 20(2): 600-605;
  31. Ruby NF, Brennan TJ. et al. Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science*. 2002;298(5601):2211–3
  32. Schmidt TM, Taniguchi K, and Kofuji P. Intrinsic and extrinsic light responses in melanopsin-expressing ganglion cells during mouse development. *J Neurophysiol* 100: 371-384, 2008
  33. Schmidt TM, Alam NM, Chen S, Kofuji P, Li W, Prusky GT, and Hattar S. A role for melanopsin in alpha retinal ganglion cells and contrast detection. *Neuron* 82: 781-788, 2014
  34. Kofuji P. Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Schmidt TM<sup>1</sup>, J Neurosci*. 2009 Jan 14;29(2):476-82. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4117-08.2009.
  35. Schmidt TM, and Kofuji P. Differential cone pathway influence on intrinsically photosensitive retinal ganglion cell subtypes. *J Neurosci* 30: 16262-16271, 2010
  36. Kofuji P. Structure and function of bistratified intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in the mouse. *Schmidt TM<sup>1</sup>, J Comp Neurol*. 2011 Jun 1;519(8):1492-504. doi: 10.1002/cne.22579.
  37. Sekaran S, Lupi D, Jones SL, Sheely CJ, Hattar S, Yau KW, Lucas RJ, Foster RG, and Hankins MW. Melanopsin-dependent photoreception provides earliest light detection in the mammalian retina. *Curr Biol* 15: 1099-1107, 2005
  38. Thompson S, Recober A, Vogel TW, Kuburas A, Owens JA, et al. Light aversion in mice depends on nonimage-forming irradiance detection. *Behavioral neuroscience*. 2010;124:821–7
  39. Tu DC, Zhang D. et al. Physiologic diversity and development of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Neuron*. 2005;48(6):987–99
  40. Vugler AA, Redgrave P, Hewson-Stoate NJ, Greenwood J, and Coffey PJ. Constant illumination causes spatially discrete dopamine depletion in the normal and degenerate retina. *J Chem Neuroanat* 33: 9-22, 2007
  41. Zaidi FH, Hull JT, Peirson SN, Wulff K, Aeschbach D, Gooley JJ, Brainard GC, Gregory-Evans K, Rizzo JF, 3rd, Czeisler CA, Foster RG, Moseley MJ, and Lockley SW. Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *Curr Biol* 17: 2122-2128, 2007
  42. Zhang DQ, Wong KY, Sollars PJ, Berson DM, Pickard GE, and McMahon DG. Intraretinal signaling by ganglion cell photoreceptors to dopaminergic amacrine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 14181-14186, 2008
  43. Zhao X, Stafford BK, Godin AL, King WM, and Wong KY. Photoresponse diversity among the five types of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Physiol* 592: 1619-1636, 2014