

Rola wewnętrznie światłoczułych komórek siatkówki – wprowadzenie



Foto: archiwum Autorki



Foto: archiwum Autorki

NATALIA DATTA¹, MAŁGORZATA SEREDYKA-BURDUK²

¹Bydgoski Zakład Optyczny Żuchowscy w Bydgoszczy

²Klinika Okulistyki i Optometrii Katedra Chorób Oczu Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Wstęp

Pierwsze doniesienia wskazujące na istnienie dodatkowego systemu wykrywania światła, wykorzystującego inne receptory niż komórki czopkonośne i pręcikonośne, miały miejsce w latach dziewięćdziesiątych XX wieku. Liczne badania doprowadziły do wykrycia w siatkówce zwierząt subpopulacji komórek zwojowych zdolnych do bezpośredniej reakcji na światło. Komórki te nazwano wewnętrznie światłoczułymi komórkami zwojowymi siatkówki (ang. *intrinsically photosensitive retinal ganglion cells*, ipRGCs). Tworzą one skomplikowany system, dzięki któremu możliwa jest ocena zmian natężenia światła w otoczeniu. System ten odgrywa bardzo ważną rolę w funkcjach wzrokowych niezwiązanych z tworzeniem obrazu (ang. *non-image-forming photoreceptor system*, NIF), takich jak synchronizacja rytmów dobowych, procesów poznawczych i afektywnych oraz wpływ na wydzielanie hormonów. W niniejszym opracowaniu przedstawione zostaną podstawowe informacje na temat światłoczułych komórek zwojowych [1].

Lokalizacja komórek zwojowych światłoczułych

Komórki zwojowe światłoczułe tworzą trzecią klasę fotoreceptorów siatkówki, charakteryzującą się ekspresją fopigmentu melanopsyny. Spośród około 1,5 miliona komórek zwojowych jedynie 0,5% (około 7300) stanowią ipRGCs. Ich gęstość zależy od lokalizacji – w strefie centralnej wynosi około 20-25 komórek/mm², zaś w części obwodowej siatkówki – około 3-5 komórek/mm². Obszar siatkówki obejmowany przez drzewo dendrytyczne pojedynczej komórki ipRGC jest dużo większy, niż pozostałych komórek zwojowych. Jego średnica wynosi od około 300 μm w centrum do nawet 1200 μm na obwodzie siatkówki. Dendryty sąsiadujących ze sobą komórek zachodzą na siebie w znacznym stopniu. Oznacza to, że cała siatkówka z wyjątkiem dołka środkowego pokryta jest siecią wypustek zawierających melanopsynę. Ponieważ zarówno ciała komórkowe, jak i dendryty tych komórek są światłoczułe, każda komórka integruje fotony światła padającego na obszar siatkówki o rozmiarze porównywalnym z wielkością jej pola dendrytycznego – dla porównania pole recepcyjne pręcika czy czopka ma średnicę mniejszą niż 10 μm [1,2].

Podtypy komórek zwojowych melanopsynowych

Do chwili obecnej wyróżniono kilka typów ipRGCs różniących się morfologią, stopniem ekspresji melanopsyny, o różnych cechach fizjologicznych, a co za tym idzie – pełniących prawdopodobnie odmienne funkcje. Pierwsze dwa typy komórek (M1, M2) zostały opisane przy użyciu tradycyjnych metod immunohistochemicznych. Do oceny pozostałych wykorzystano hodowle komórkowe czy metody wzmożonej immunoreaktywności melanopsyny, ponieważ ko-

mórki te mają poziomy fopigmentu zbyt niskie, aby można je było wiarygodnie wykryć za pomocą konwencjonalnego immunobarwienia [2].

Jak dotąd subpopulacje ipRGCs najlepiej poznano i opisano u myszy – wyróżniono u nich sześć typów komórek. Dwa pierwsze typy M1 i M2 charakteryzują się silną ekspresją melanopsyny. Komórki M1 mają niewielkie ciała komórkowe – o średnicy 15 μm oraz rzadko rozgałęzione, rozległe drzewo dendrytyczne pokrywające obszar o średnicy około 350 μm, docierające do zewnętrznej części warstwy splotowatej wewnętrznej (ang. *inner plexiform layer*, IPL) – tzw. warstwy OFF leżącej w sąsiedztwie warstwy jądrzastej wewnętrznej (ang. *inner nuclear layer*, INL). Część komórek typu M1 ma ciała komórkowe przesunięte z warstwy komórek zwojowych (ang. *ganglion cell layer*, GCL) do wewnętrznej części INL – ten rodzaj komórek M1 nazwano M1d. Komórki typu M1 charakteryzuje największa wewnętrzna światłoczułość spośród wszystkich typów ipRGCs. Komórki typu M2 mają nieco większe ciała komórkowe – o średnicy około 18 μm i podobnie jak komórki M1 rzadkie, ale rozległe drzewo dendrytyczne o średnicy 380 μm, które rozgałęzia się w wewnętrznej części IPL – tzw. warstwie ON. Komórki M2 wykazują mniejszą ekspresję melanopsyny, niż komórki M1 i dlatego są o rząd wielkości mniej wrażliwe na światło. Ciało komórkowe komórek M3 ma wielkość pośrednią pomiędzy rozmiarem komórek M1 i M2. Ich drzewo dendrytyczne jest również rzadko rozgałęzione, jednak obejmuje największy obszar siatkówki spośród wszystkich typów ipRGCs. Jego średnica osiąga około 460 μm. Dendryty komórek M3 kończą się w IPL – docierają zarówno do warstwy ON, jak i OFF. Komórki M3 charakteryzuje niska ekspresja melanopsyny, co przekłada się na mniejszą wrażliwość na światło i zdolność fototransdukcji w porównaniu z komórkami M1 i M2. Komórki typu M4 mają największy rozmiar ciała komórkowego. Jego średnica wynosi 24 μm. Drzewo dendrytyczne komórek M4 rozgałęzia się w warstwie ON IPL i obejmuje obszar siatkówki, którego wielkość zależy od lokalizacji komórki – jest mniejsza w centrum, większa na obwodzie siatkówki i wynosi odpowiednio od 270 μm do 370 μm. Komórki M4 zawierają niewielkie ilości melanopsyny, stąd ich próg wrażliwości na światło jest wysoki i zdolność do wewnętrznej światłoczułości niska. Poziomy melanopsyny w kolejnych dwu typach ipRGCs – M5 i M6 są jeszcze niższe. Komórki M5 mają małe ciała komórkowe – o średnicy około 14 μm i gęste, zwarte, mocno rozgałęzione (krzaczaste) drzewo dendrytyczne obejmujące obszar o średnicy około 220 μm. Dendryty kończą się w warstwie ON IPL. Komórki M6 są jeszcze mniejsze – ich ciała komórkowe ma 12 μm średnicy, a średnica obszaru rozgałęzienia dendrytów wynosi podobnie jak w przypadku komórek M5 220 μm. Drzewo dendrytyczne komórek M6 jest bardziej rozgałęzione, niż w komórkach M5, a zakończenia dendrytów osiąga zarówno część ON, jak i OFF IPL [2-6]. Dane na temat mysich typów ipRGCs zestawiono w tabeli 1.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Średnica ciała komórki [μm]	15	18	15-18	24	14	12
Położenie ciała komórki	GCL/INL	GCL	GCL	GCL	GCL	GCL
Średnica drzewa dendrytycznego [μm]	350	380	460	270-370	220	220
Położenie zakończeń dendrytów	warstwa OFF IPL	warstwa ON IPL	warstwa ON i OFF IPL	warstwa ON IPL	warstwa ON IPL	warstwa ON i OFF IPL
Ekspresja melanopsyny	++++	+++	++	+	+	+

Tab. 1. Charakterystyka subpopulacji mysich światłoczułych komórek zwojowych (wyjaśnienia skrótów w tekście, opracowanie własne na podstawie [2–6])

W siatkówce człowieka wyróżnia się pięć morfologicznych typów komórek, z czego cztery z nich (M1–M4) wykazują duże podobieństwo do komórek M1–M4 stwierdzanych u myszy i omówionych powyżej. Piąty typ ludzkich ipRGCs został nazwany gigantycznymi komórkami M1 (GM1). Zawdzięczają one swoją nazwę bardzo dużemu rozmiarowi ciała komórkowego – osiąga ono 33 μm średnicy. Część ciał komórkowych GM1 położona jest poza warstwą komórek zwojowych – leżą w wewnętrznej części INL. Drzewo dendrytyczne komórek GM1 kończy się w części OFF IPL [2].

Charakterystyka melanopsyny

Zdolność ipRGCs do bezpośredniego reagowania na światło jest wynikiem ekspresji białka – melanopsyny. Białko to wykazuje największą czułość na światło o długości fali 480 nm. Swoją nazwę fotopigment zawdzięcza po pierwsze melanoformom skóry żaby szponiastej, z których został sklonowany, po drugie – przynależności do grupy opsyn. Gen melanopsyny (opn-4) został znaleziony u wielu gatunków ssaków, w tym u człowieka. Melanopsyna wykazuje większe podobieństwo budowy do opsyn fotoreceptorów bezkręgowców, niż do opsyn kręgowców, które występują w pręcikach i czopkach [1, 2].

Melanopsyna jest tzw. receptorem serpentyńnym sprzężonym z białkiem z rodziny G – Gq/11. Znajduje się ona w błonie komórkowej ciał komórkowych i dendrytów komórek zwojowych światłoczułych. Podobnie jak w przypadku każdego receptora serpentyńowego, łańcuch białkowy melanopsyny siedmiokrotnie przechodzi przez błonę komórkową tworząc hydrofobowe domeny transbłonowe. Domeny te są połączone naprzemiennie pętlami, które leżą pozakomórkowo lub w cytoplazmie. Koniec aminowy łańcucha melanopsyny skierowany jest do przestrzeni zewnątrzkomórkowej a karboksylowy – w kierunku cytoplazmy. W siódmej domenie przezbłonowej w pozycji 294 występuje lizyna, do której przyłącza się chromofor – 11-cis-retinal. Z białkiem G reaguje zaś reszta aminokwasowa znajdująca się w obrębie trzeciej pętli wewnątrzplazmatycznej [1, 2, 5].

Melanopsyna, podobnie jak fotopigmenty pręcików i czopków, wykorzystuje 11-cis-retinal jako chromofor absorbujący światło. Pierwszym etapem jej pobudzenia jest przemiana formy „cis” w formę „all-trans” retinalu. Po zadziaaniu światła all-trans-retinal w fotoreceptorach musi być zizomeryzowany do postaci cis-retinalu, by pigment mógł zostać ponownie pobudzony. Po pobudzeniu pręcików i czopków all-trans-retinal odłącza się od opsyny i pod wpływem izomeraz siatkówkowych, z udziałem komórek nabłonka barwnikowego oraz komórek glejowych Müllera, dokonuje się jego przemiana w formę cis. W przypadku melanopsyny forma trans-retinalu zatrzymywana jest przez opsynę i po absorpcji kolejnego fotonu światła izomeryzowana jest do formy cis. Ten proces nazywany jest fotoodwróceniem. Wynika z tego, że melanopsyna jest zarówno fotopigmentem, jak i izomerazą. Zauważono, że w czasie przedłużonej ekspozycji na światło regeneracja melanopsyny w ipRGCs zależy częściowo od 11-cis-retinalu dostarczanego przez komórki nabłonka barwnikowego. Z uwagi na fakt, iż komórki nabłonka znajdują się w oddaleniu – ponad 100 μm od komórek zwojowych – związek ten transportowany jest przez białko CRALBP (ang. *cellular retinaldehyde-binding protein*) za pośrednictwem komórek Müllera, które są rozpięte przez całą grubość siatkówki [2].

Mechanizm transdukcji światła w komórkach zwojowych melanopsynowych

Odpowiedź ipRGCs na światło różni się od odpowiedzi typowych fotoreceptorów biorących udział w procesie widzenia – pręcików i czopków. Komórki ipRGC są po pierwsze znacznie mniej wrażliwe na światło. Ich odpowiedź jest opóźniona – pierwszy potencjał czynnościowy pojawia się od kilkuset milisekund do dziesiątek sekund od

zadziaania światła. Opóźnienie jest tym większe, im natężenie światła jest niższe. Reakcja na światło ipRGCs jest toniczna i długotrwała – może trwać nieprzerwanie nawet 19 godzin. Dzięki temu komórki „koduja” energię bodźca, który je pobudził i tym samym informują o poziomie światła w otoczeniu [1, 2].

Fotoreceptory zwierząt występują w dwóch odmianach – rzęskowej (głównie u kręgowców) i rabdomerycznej (głównie u bezkręgowców). Różnią się one kaskadą reakcji, w wyniku których energia świetlna przekształcana jest w sygnał elektryczny. W ciemności retinal znajdujący się w cząsteczce fotopigmentu, występuje w konfiguracji 11-cis. Jedynym działaniem światła jest zmiana kształtu retinalu i przekształcenie go w izomer trans. Przemiana retinalu pod wpływem światła powoduje zmianę konfiguracji opsyny, która aktywuje związane z nią heterotrymeryczne białko z rodziny G. W przypadku typowych fotoreceptorów jest to białko Gi/o – transducyna, zaś w przypadku ipRGC – białko Gq/11. Pręciki i czopki są fotoreceptorami rzęskowymi. Wykorzystują takie reakcje, w których drugim przekazywaczem jest cykliczny guanozynomonofosforan (cGMP). W efekcie, po zadziaaniu światła w komórce spada poziom cGMP, zamykają się kanały jonowe (kationowe) bramkowane przez cGMP i dochodzi do hiperpolaryzacji błony komórkowej. Wewnątrznie światłoczułe komórki zwojowe są receptorami rabdomerycznymi. W tym przypadku w procesie fototransdukcji dochodzi do aktywacji fosfolipazy C (PLC) i rozpadu lipidu błonowego – bifosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP2). W wyniku hydrolizy powstaje związany z błoną diacyloglicerol i uwalniany do cytoplazmy trójfosforan inozytolu (IP3). Przemiany te prowadzą do otwarcia kanałów jonowych oraz uwolnienia jonów wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych. W efekcie dochodzi do depolaryzacji błony komórkowej [1, 2, 4, 7].

Okazuje się, że ipRGC nie tylko bezpośrednio reagują na światło, ale także odbierają sygnały z pręcików i czopków za pośrednictwem komórek dwubiegunowych i amakrynowych. Wewnętrzna reakcja na światło jest powolna, podczas gdy zewnętrzna – generowana przez pręciki i czopki – tak szybka jak w typowych fotoreceptorach [2].

	ipRGC	pręciki i czopki
Położenie ciała komórki	warstwa komórek zwojowych (najczęściej)	warstwa jądrowa zewnętrzna
Liczba komórek	7300	pręciki – 120 000 000 czopki – 6 000 000
Wielkość pola recepcyjnego	duże	małe
Fotopigment	melanopsyna	pręciki – rodopsyna czopki – opsyny czopkowe
Maksimum absorpcji [nm]	480	pręciki – 500 czopki – 420–440, 530–540, 560–580
Polaryzacja w stanie aktywnym	depolaryzacja	hiperpolaryzacja
Odpowiedź na światło	szybka, przejściowa	wolna, długotrwała

Tab. 2. Porównanie wewnątrznie światłoczułych komórek zwojowych siatkówki z klasycznymi fotoreceptorami siatkówki (opracowanie własne na podstawie [1, 2])

Podsumowanie

Opisane powyżej zwojowe komórki światłoczułe siatkówki stanowią ciekawe odkrycie, którego dokonano na przestrzeni ostatnich kilku dekad. Poznanie ich osobliwej fizjologii pozwoliło lepiej zrozumieć ich znaczenie dla regulacji rytmów dobowych oraz określić wpływ na jakość życia pacjentów niewidomych. W kolejnym opracowaniu przedstawione zostaną mechanizmy, dzięki którym światłoczułe komórki zwojowe mogą pełnić swoją funkcję oraz omówiony zostanie wpływ nadmiaru światła w godzinach nocnych na nasze codzienne funkcjonowanie.

Piśmiennictwo

- J. B. Zawilska, K. Czarnecka. Melanopsyna – nowo odkryty chronobiologiczny receptor światła. *Postępy Biologii Komórki* 2006; 2: 229–246
- L. A. Levin, P. L. Kaufman, M. E. Hartnett. *Adler's Physiology of the Eye. Twelfth Edition*. Elsevier 2024
- P. Lax, I. Ortuño-Lizarán, V. Maneu, M. Vidal-Sanz, N. Cuenca. Photosensitive Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells in Health and Disease: Implications for Circadian Rhythms. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 28;20(13):3164. doi: 10.3390/ijms2013164.
- M. T. Do, K. W. Yau. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Physiol Rev* 2010 Oct; 90(4):1547–81. doi: 10.1152/physrev.00013.2010.
- S. Hughes, A. Jagannath, J. Rodgers, M. W. Hankins, S. N. Peirson SN et al. Signalling by melanopsin (OPN4) expressing photosensitive retinal ganglion cells. *Eye (Lond)* 2016 Feb; 30(2):247–54. doi: 10.1038/eye.2015.264.
- M. L. E. Quattrochi, M. E. Stabio, I. Kim, M. C. Ilardi, P. M. Fogerson et al. The M6 cell: A small-field bistratified photosensitive retinal ganglion cell. *J Comp Neurol* 2019 Jan; 1;527(1):297–311. doi: 10.1002/cne.24556.
- J. L. Ecker, O. N. Dumitrescu, K. Y. Wong, N. M. Alam, S. Chen et al. Melanopsin-Expressing Retinal Ganglion-Cell Photoreceptors: Cellular Diversity and Role in Pattern Vision. *Neuron* 2010; 67: 49–60. doi:10.1016/j.neuron.2010.05.023