

FISIOLOGIA OCULARE – file # 3

La *RETINA* – Struttura a Funzione

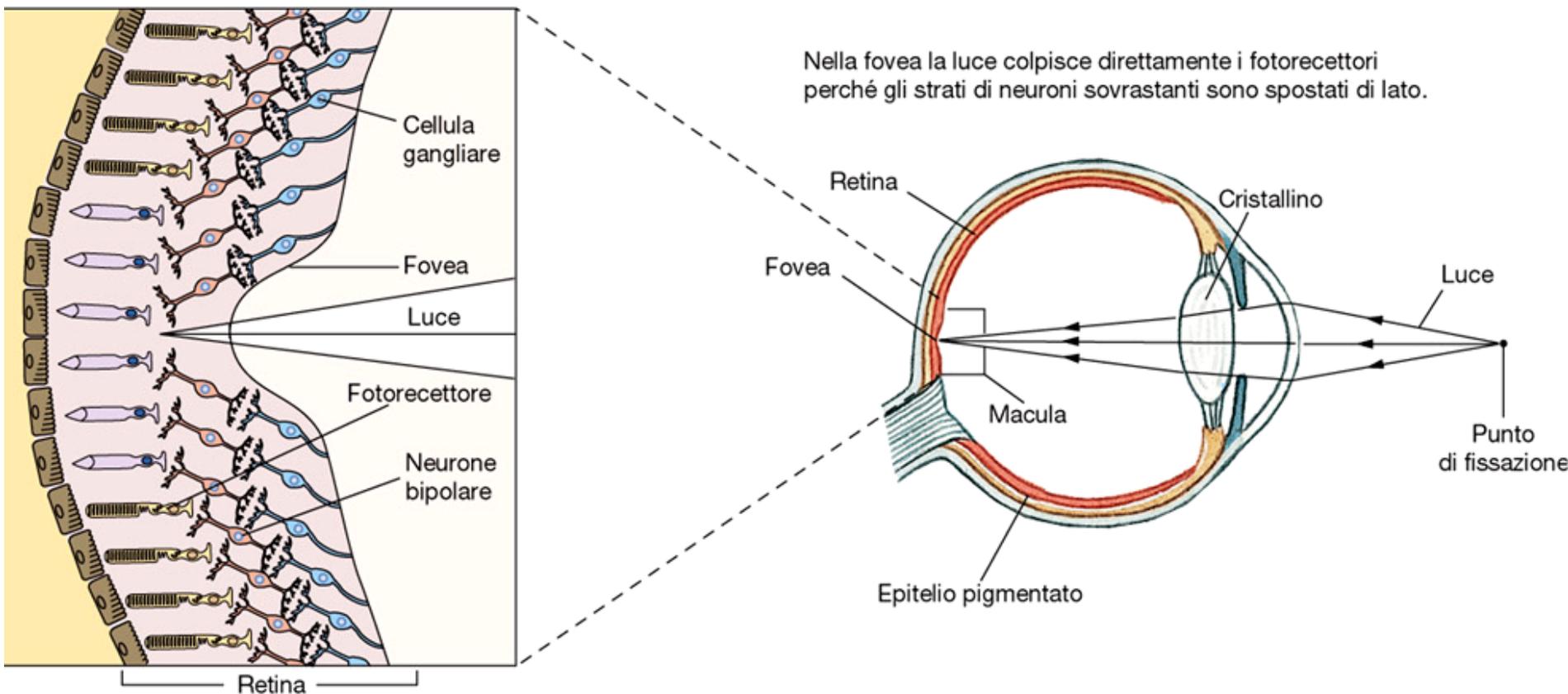


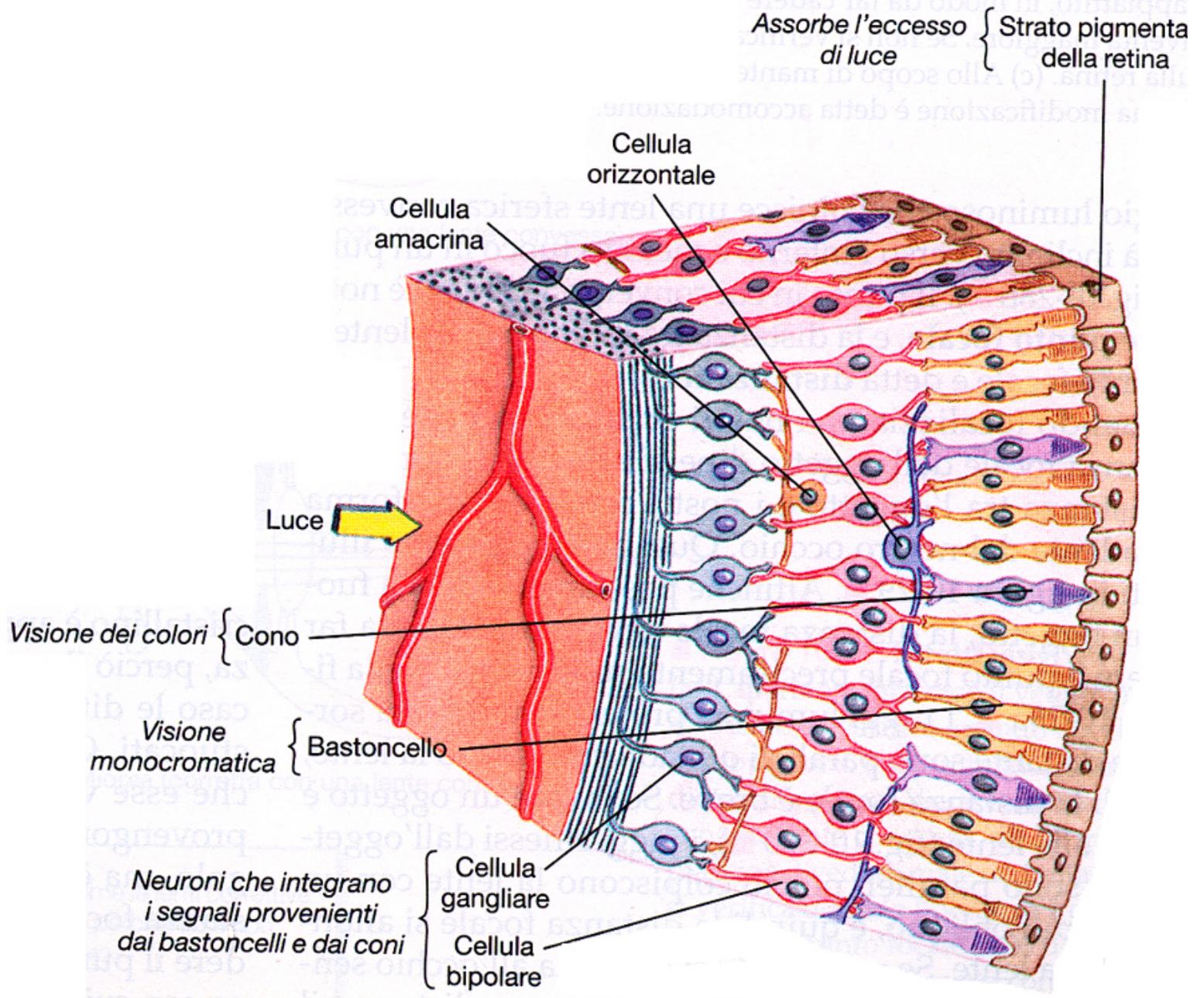
VISIONE d'insieme PRELIMINARE e SEMPLIFICATA della RETINA

La luce che colpisce la retina prima di raggiungere lo strato dei fotorecettori deve attraversare diversi strati di cellule retiniche.

Nella fovea, invece, gli strati di neuroni sovrastanti sono spostati lateralmente e la luce può colpire direttamente i fotorecettori.

Per questa ragione a livello della fovea la visione è più nitida





Strati della retina: esemplificazione delle cellule

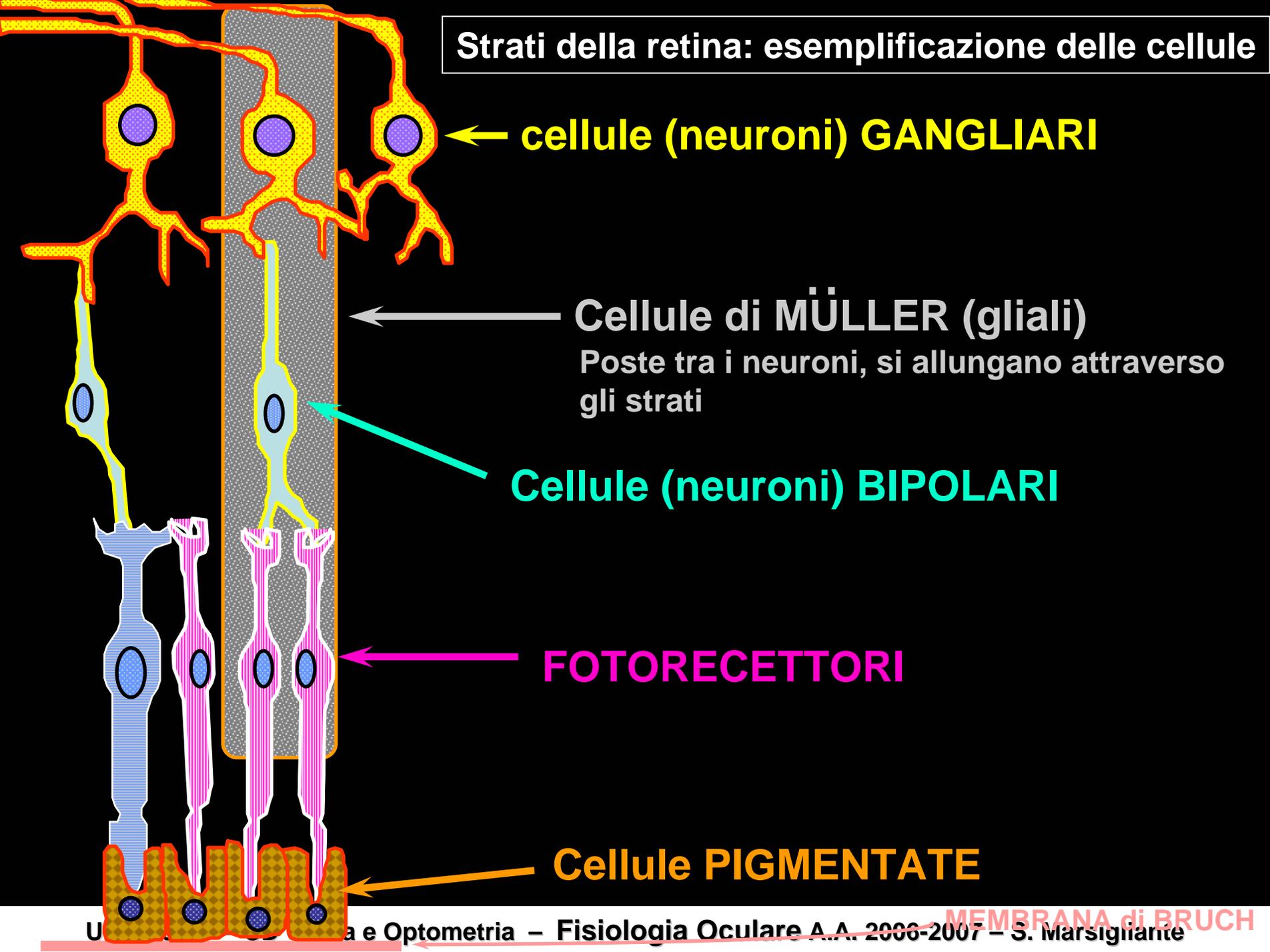
← cellule (neuroni) GANGLIARI

← Cellule di MÜLLER (gliali)
Poste tra i neuroni, si allungano attraverso gli strati

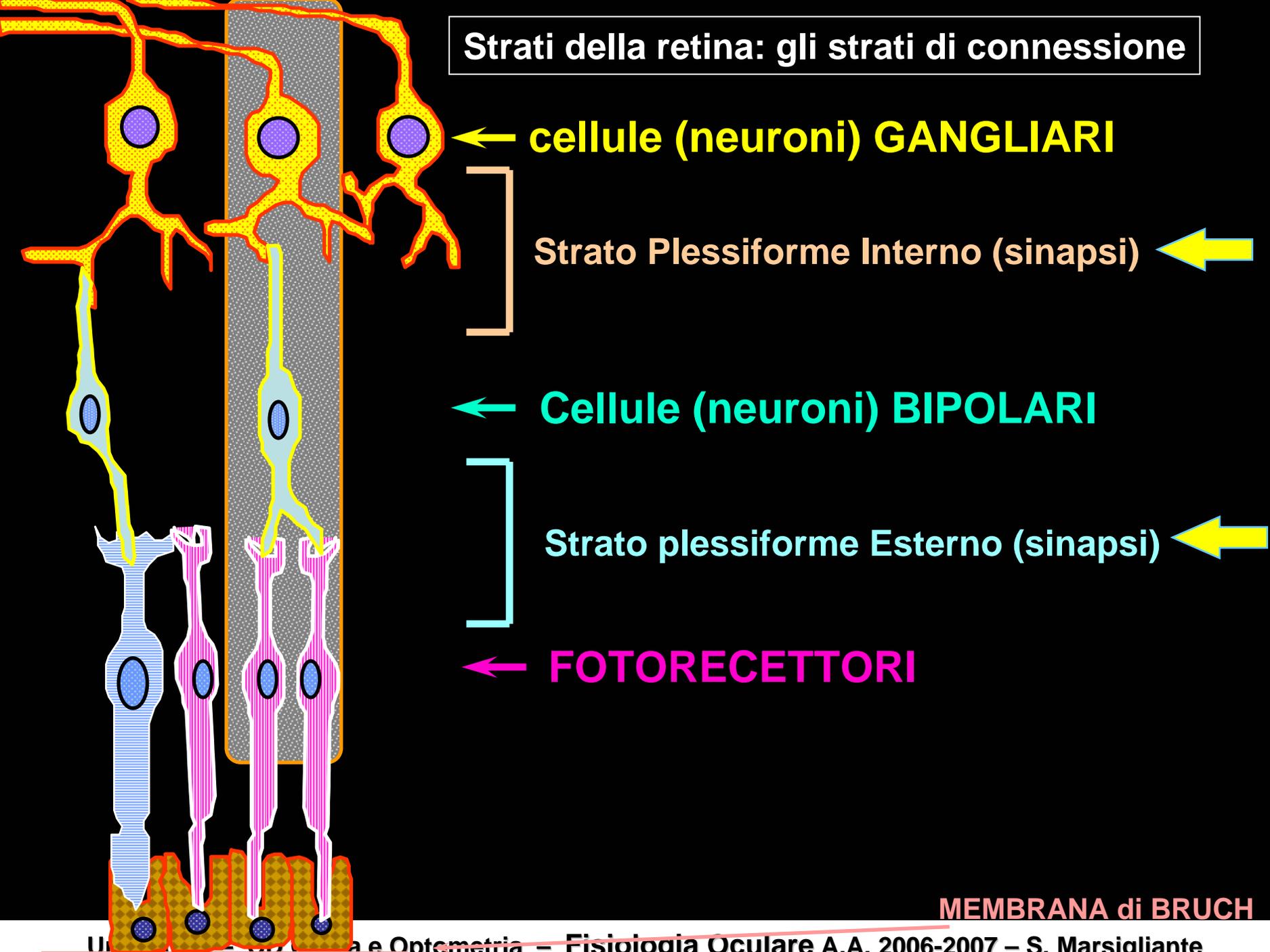
← Cellule (neuroni) BIPOLARI

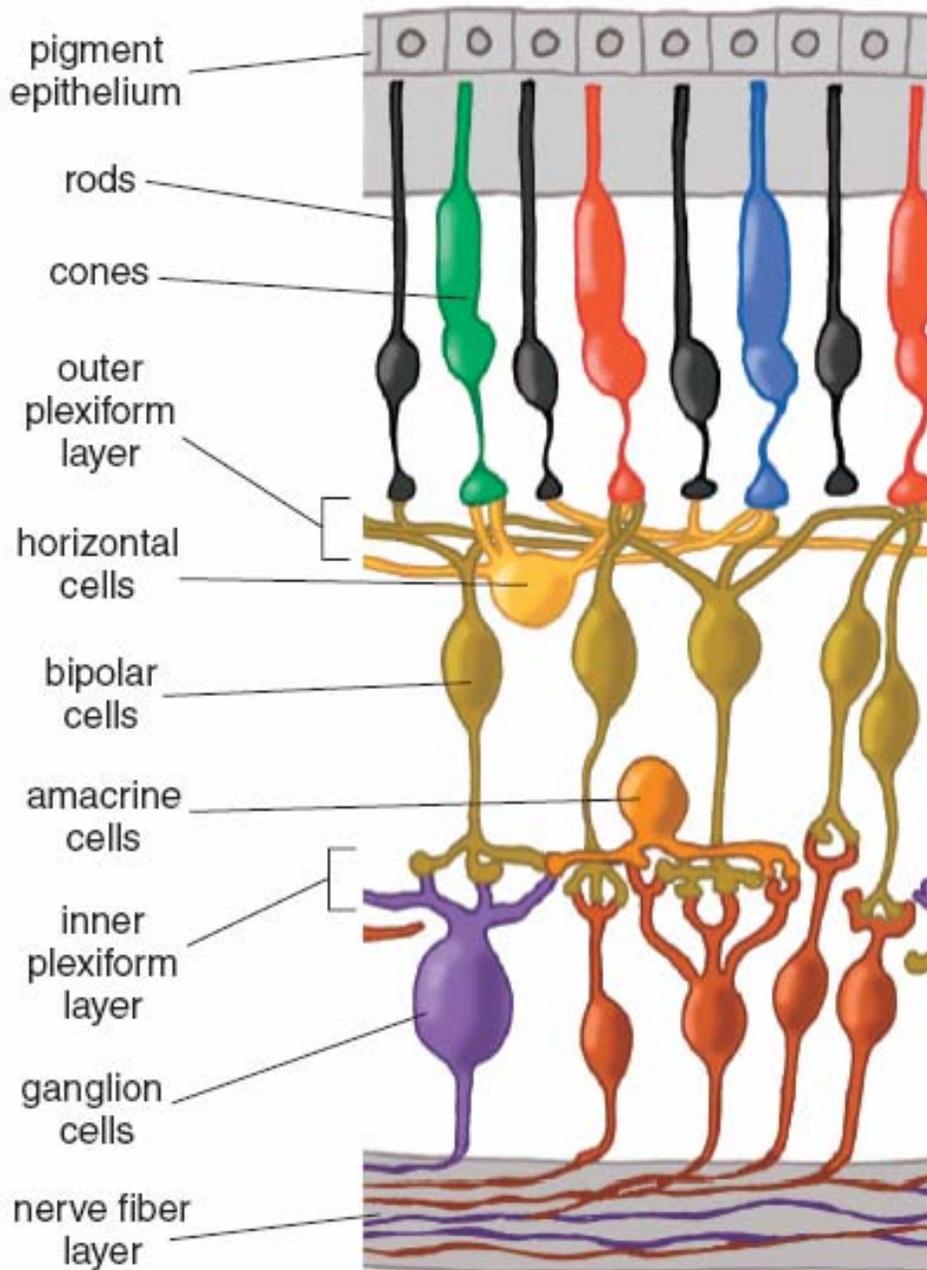
← FOTORECETTORI

← Cellule PIGMENTATE



Strati della retina: gli strati di connessione

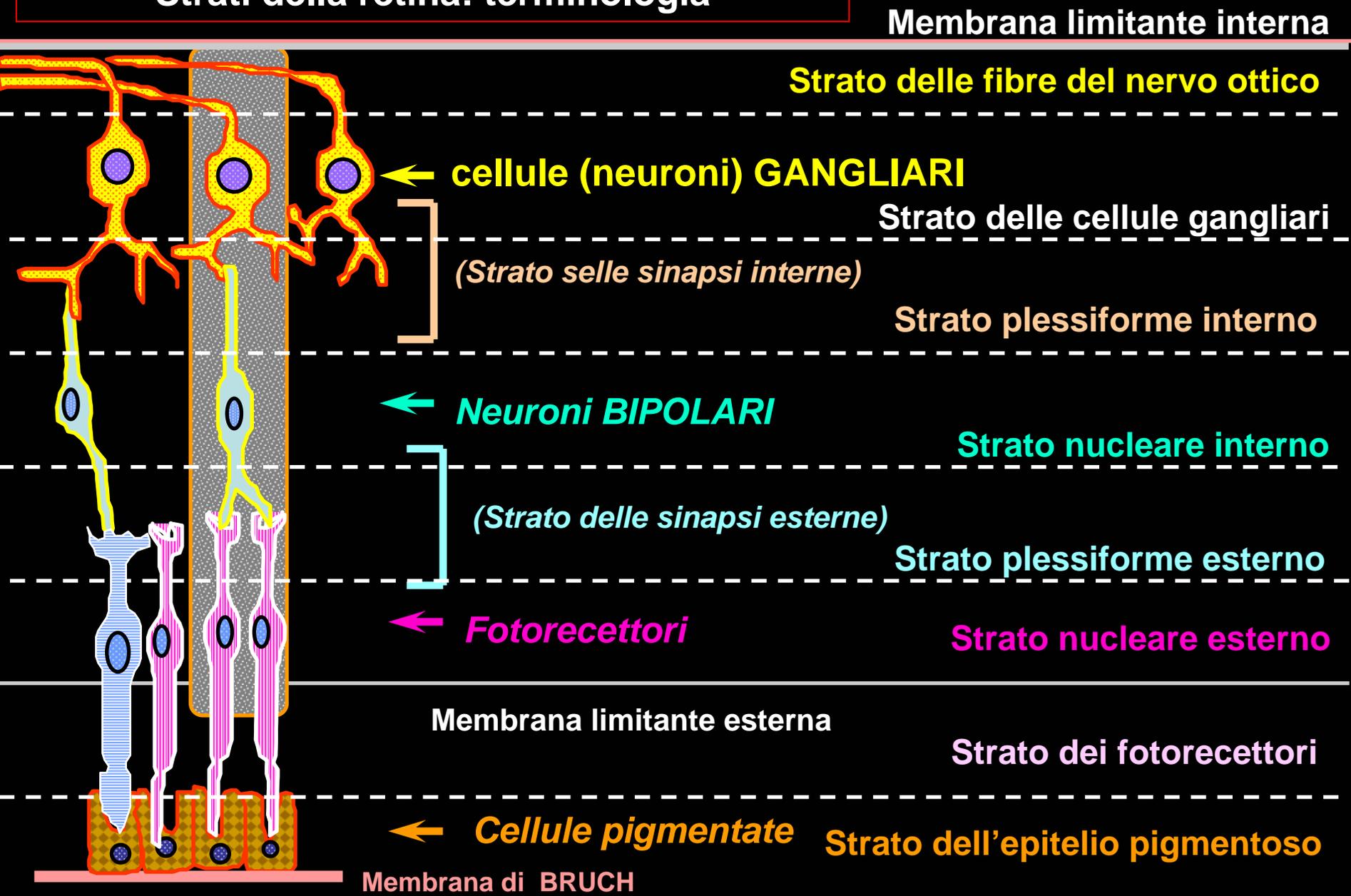




Ci aspetteremmo di trovare i fotorecettori davanti alla retina, esposti all'umor vitreo; essi invece sono posizionati sul fondo della retina e quindi la luce deve attraversare gli strati cellulari retinici prima di raggiungerli. Ciò è perché i fotorecettori devono essere in contatto con l'epitelio pigmentoso che fornisce una molecola fondamentale, il *retinale* o vitamina A.

Il retinale viene fissato dentro una proteina del recettore (una opsina) all'interno della quale il retinale cambia forma in risposta ai fotoni. Dopo la luce il retinale ricicla dietro, nell'epitelio pigmentoso. L'epitelio è scuro perchè pieno di melanina che assorbendo i fotoni impedisce che si riflettano nell'occhio; inoltre, protegge i fotorecettori dalla sovraesposizione alla radiazione luminosa.

Strati della retina: terminologia



Membrana limitante interna

Strato delle fibre del nervo ottico

cellule (neuroni) GANGLIARI

Strato delle cellule gangliari

(Strato delle sinapsi interne)

Strato plessiforme interno

Neuroni BIPOLARI

Strato nucleare interno

(Strato delle sinapsi esterne)

Strato plessiforme esterno

Fotorecettori

Strato nucleare esterno

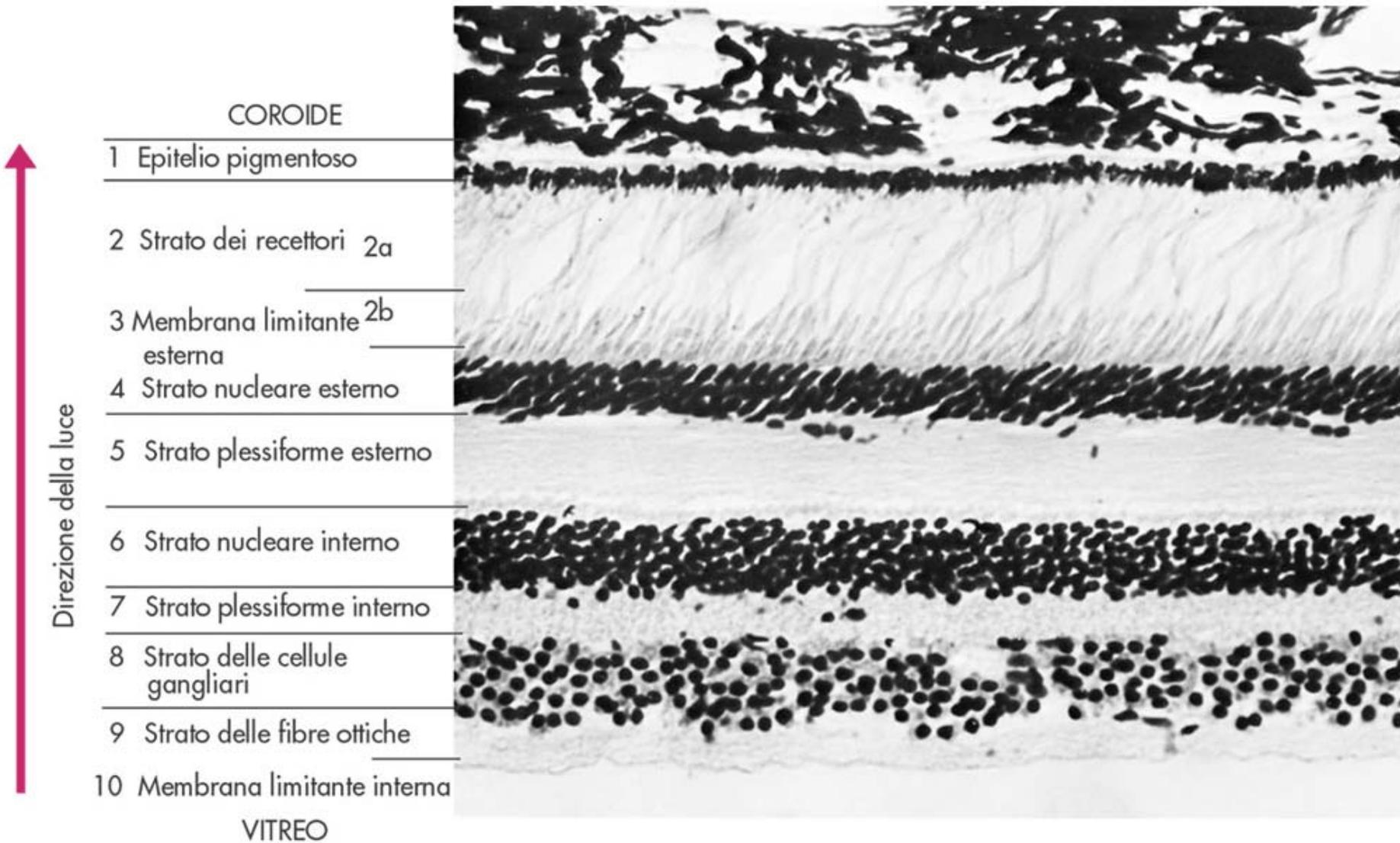
Membrana limitante esterna

Strato dei fotorecettori

Cellule pigmentate

Strato dell'epitelio pigmentoso

Membrana di BRUCH



Strati della retina: presenza di altri tipi cellulari per la maggiore integrazione dei segnali

← NEURONI GANGLIARI

NEURONI BIPOLARI

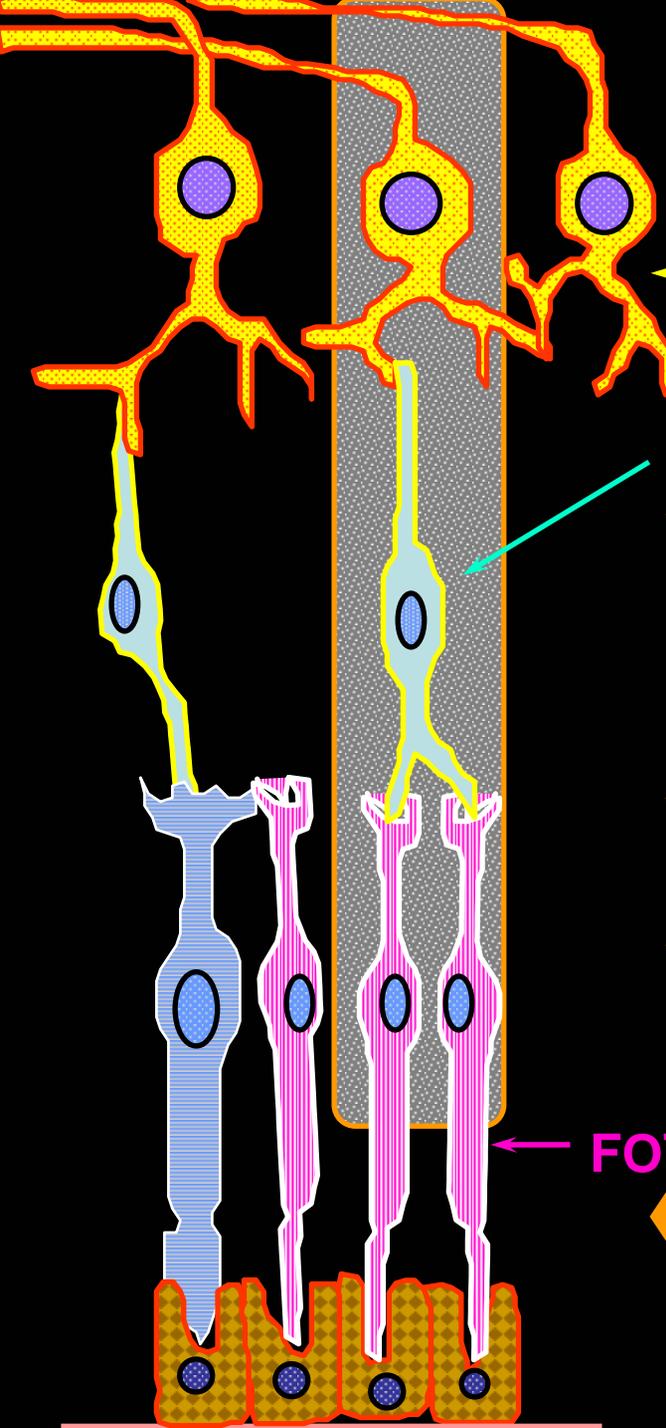
◆ La luce causa variazioni nel potenziale di membrana dei fotorecettori, ma occorrono differenti STEPS per avere pot. d'azione nelle cellule gangliari

◆ L'arrangiamento sinaptico è tale da trasmettere 'segnali' unidirezionali ↑

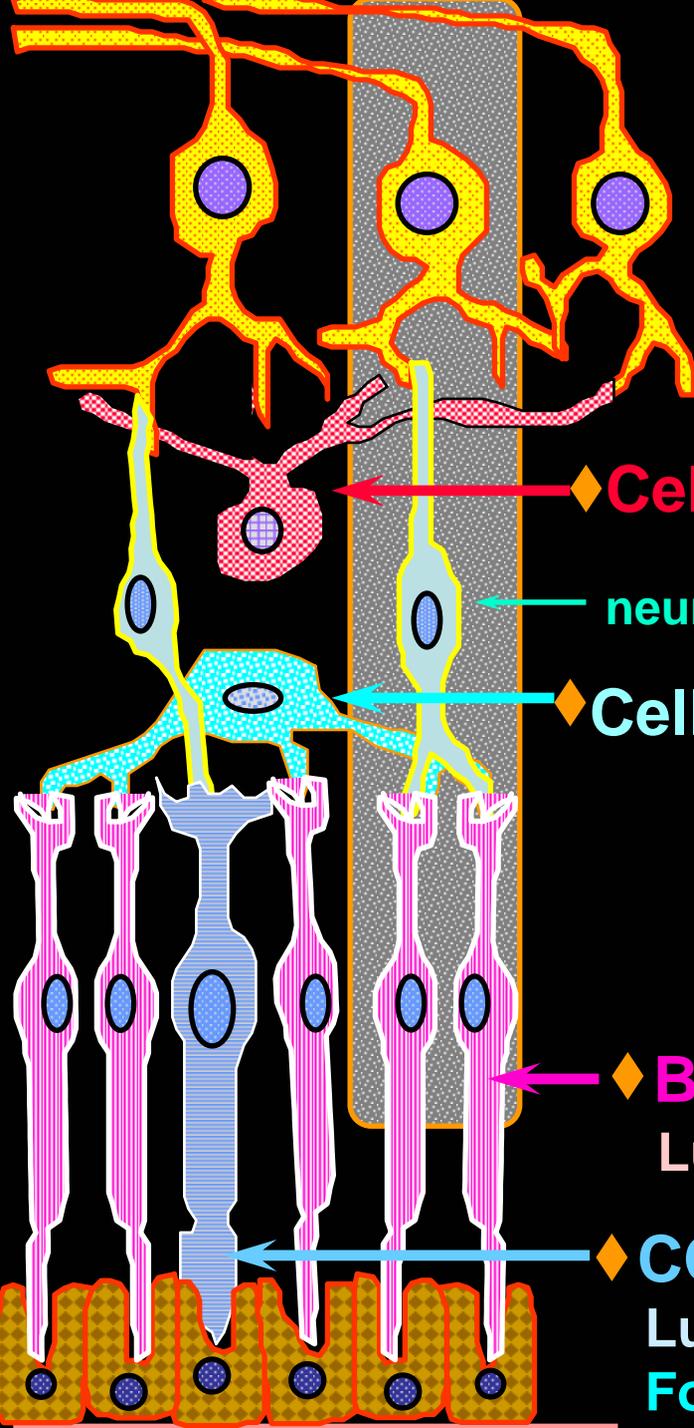
◆ Tipi cellulari addizionali e sinapsi aggiuntive forniscono maggiore integrazione e interazione nella retina ← →

← FOTORECETTORI

◆ 2 tipi di fotorecettori - bastoncelli & coni – hanno pattern di connessione diversi e molto diversa sensibilità alla luce



◆ Strati della retina: presenza di altri tipi cellulari affinché si abbia maggiore integrazione dei segnali



◆ **Cellule AMACRINE**

neuroni **BIPOLARI**

◆ **Cellule ORIZZONTALI**

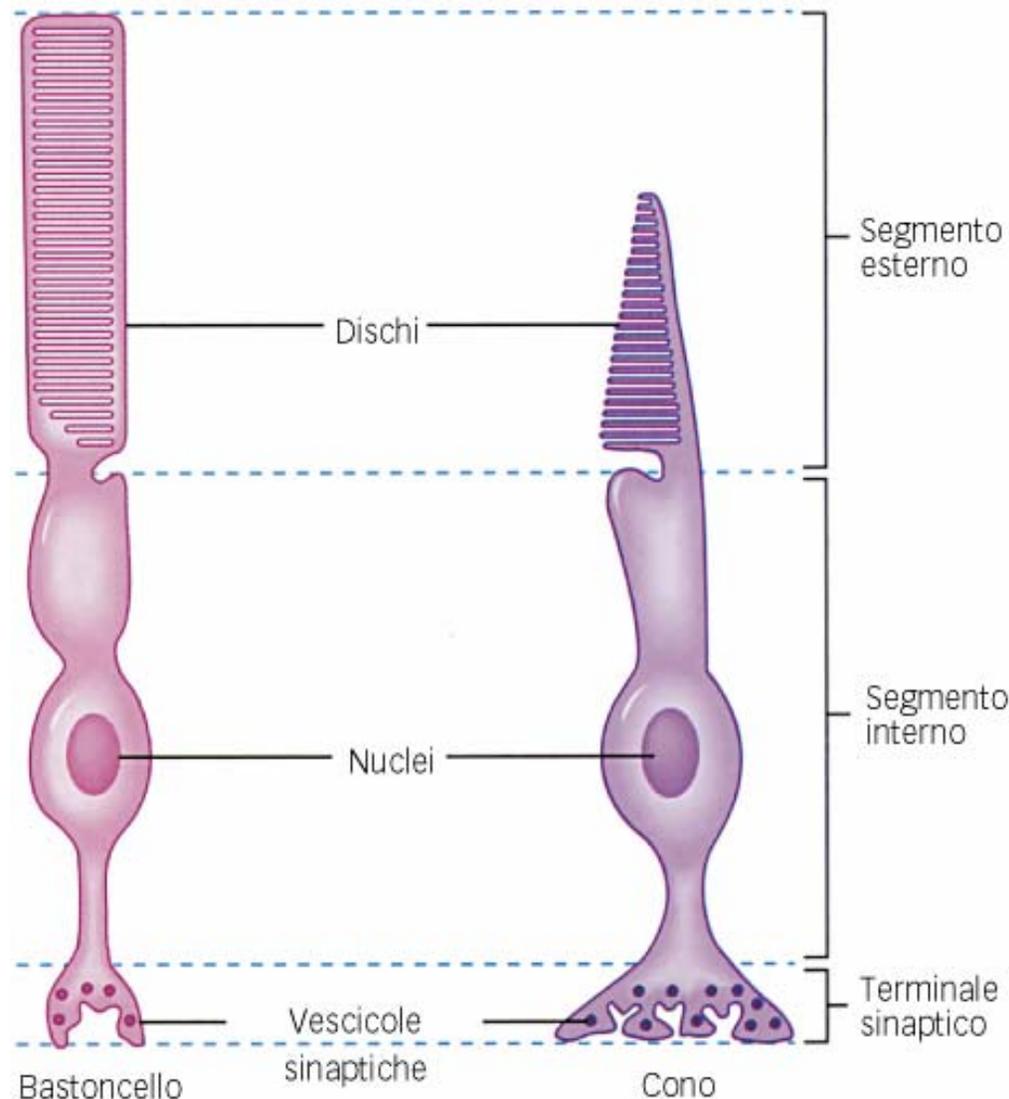
Entrambe forniscono
connessioni
trasversali

◆ **Bastoncelli**

Luce debole e percezione del nero-grigio

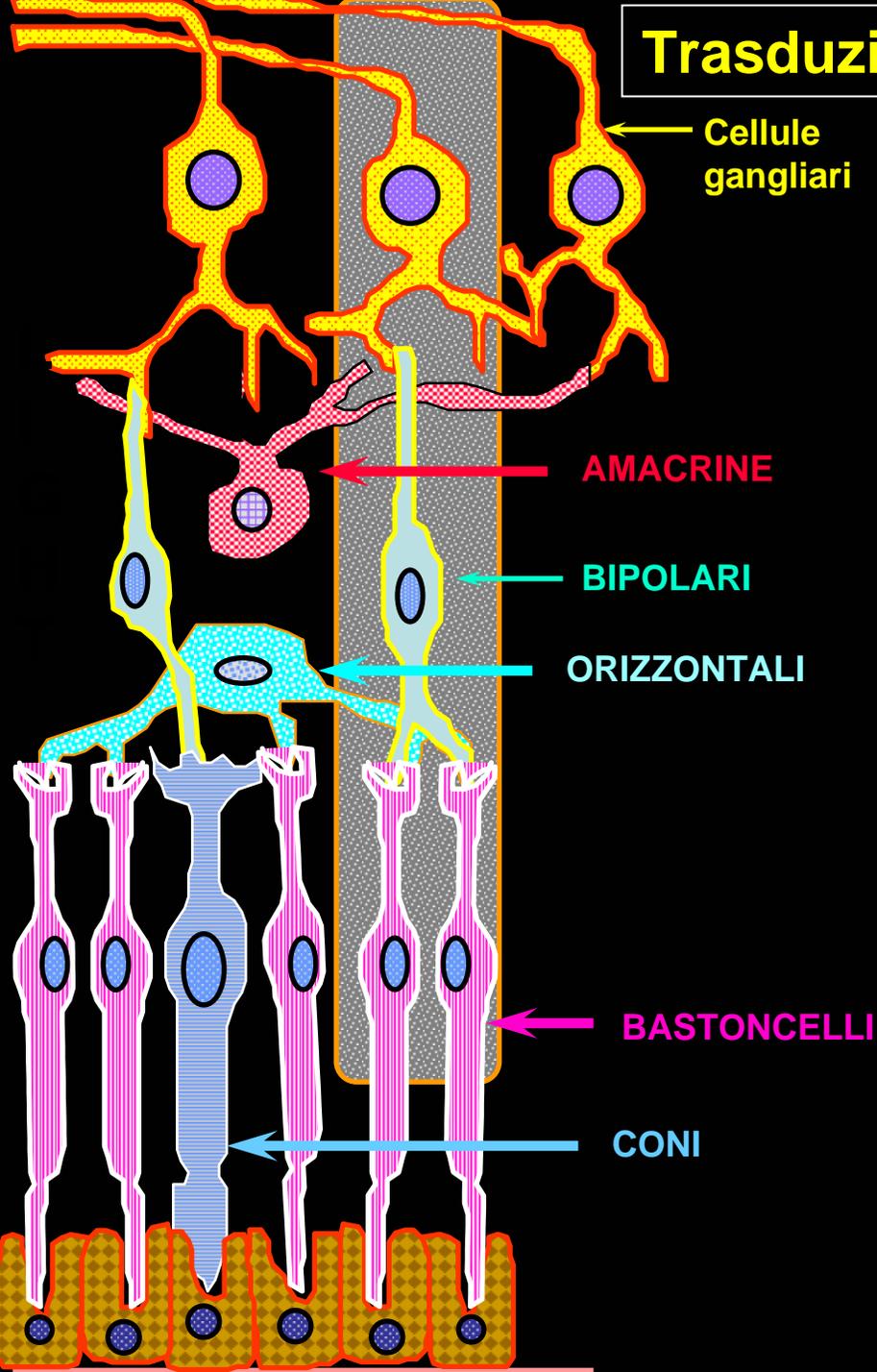
◆ **CONI**

Luce diurna e percezione dei **colori**
Fornisce acuità visiva alla fovea



Segmento esterno a forma di <u>bastoncello</u>	Segmento esterno a forma di <u>cono</u>
120.000.000 per occhio, distribuite in tutta la retina, e quindi usati per la visione periferica	6.400.000 per occhio, localizzati soprattutto nella fovea, e quindi usati per la visione nel centro della retina
Buona sensibilità	Povera sensibilità
solo 1 tipo → visione monocromatica	3 tipi (R, G e B) → visione a colori
Molti bastoncelli si connettono ad una cellula bipolare → scarsa acuità = povera risoluzione	Ogni cono è connesso ad una sola cellula bipolare → buona acuità = buona risoluzione

Trasduzione del segnale e attività elettrica



cellule gangliari che dovrebbero produrre un potenziale d'azione viaggiante nel nervo ottico



il potenziale di membrana delle cellule bipolari, che segnalano tramite GLUTAMMATO alle



La luce altera l'attività elettrica dei fotorecettori: controbatte un pre-esistente stato di depolarizzazione che viene così *iperpolarizzato* provocando l'inibizione del rilascio del GLUTAMMATO da parte del fotorecettore, cambiando così

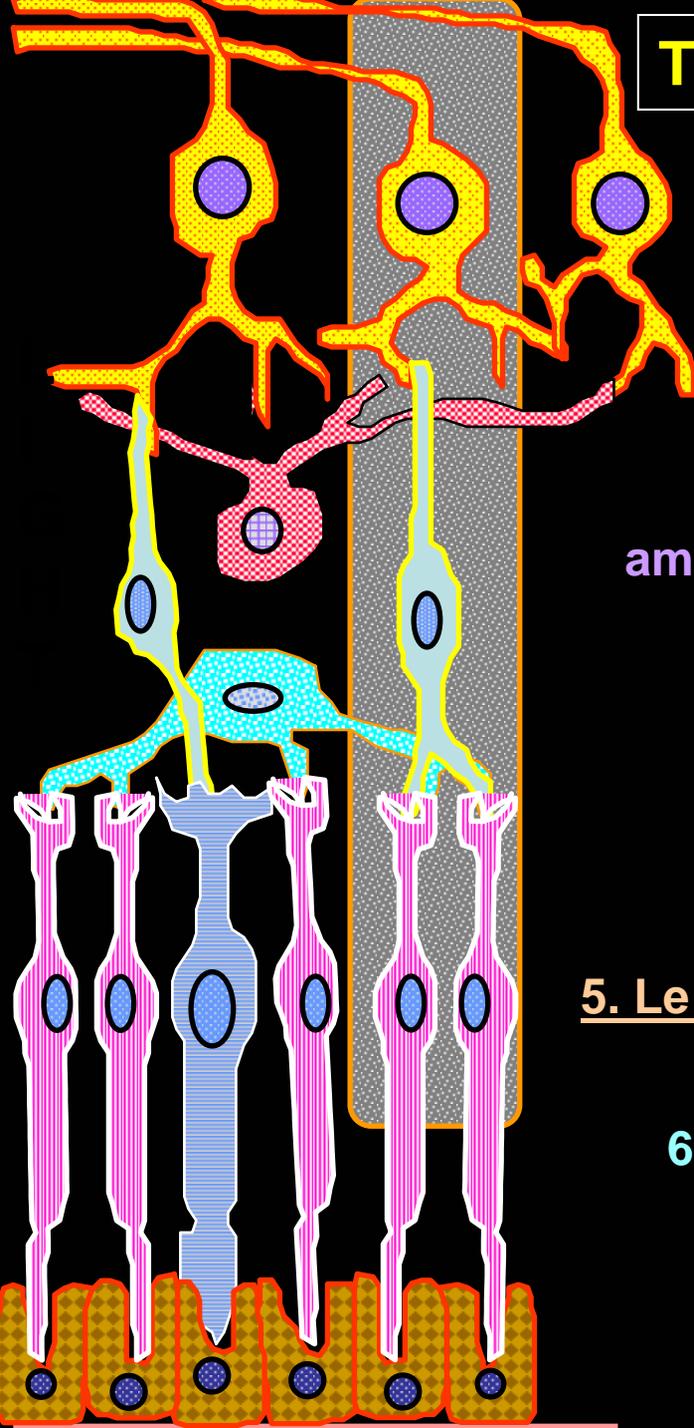


La luce passa attraverso la retina per essere assorbita dai fotopigmenti impacchettati nei coni e bastoncelli

Trasduzione del segnale e attività elettrica

alcuni degli aspetti che complicano la comprensione del funzionamento della retina:

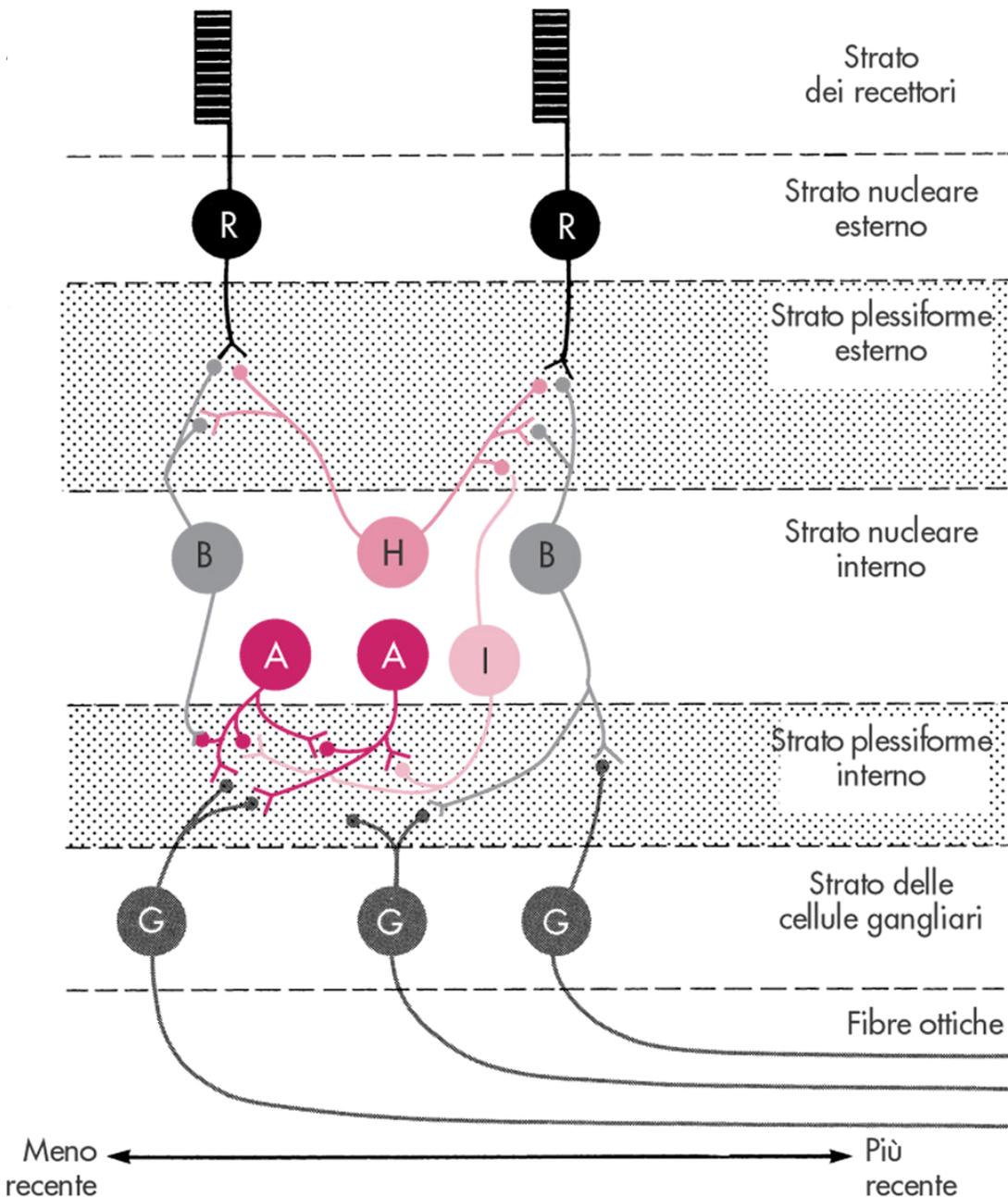
1. Come anche nel CNS, l'inibizione è molto utilizzata nella retina
2. Ci sono molti sottotipi di cellule gangliari (20), amacrine (22-30), orizzontali (1-4) e persino bipolari (11)
3. Le cellule orizzontali e amacrine mandano segnali tramite vari aminoacidi eccitatori e inibitori, catecolamine, peptidi e NO
4. Le cellule Amacrine usano sinapsi elettriche (nexus) in aggiunta alle chimiche dopaminergiche
5. Le cellule ON rispondono ad uno stimolo più luminoso dello sfondo, le cellule OFF ad uno più scuro
6. Il sistema dei bastoncelli è caratterizzato da elevata convergenza
7. I circuiti di "processing" per i segnali colorati e in movimento sono elaborati



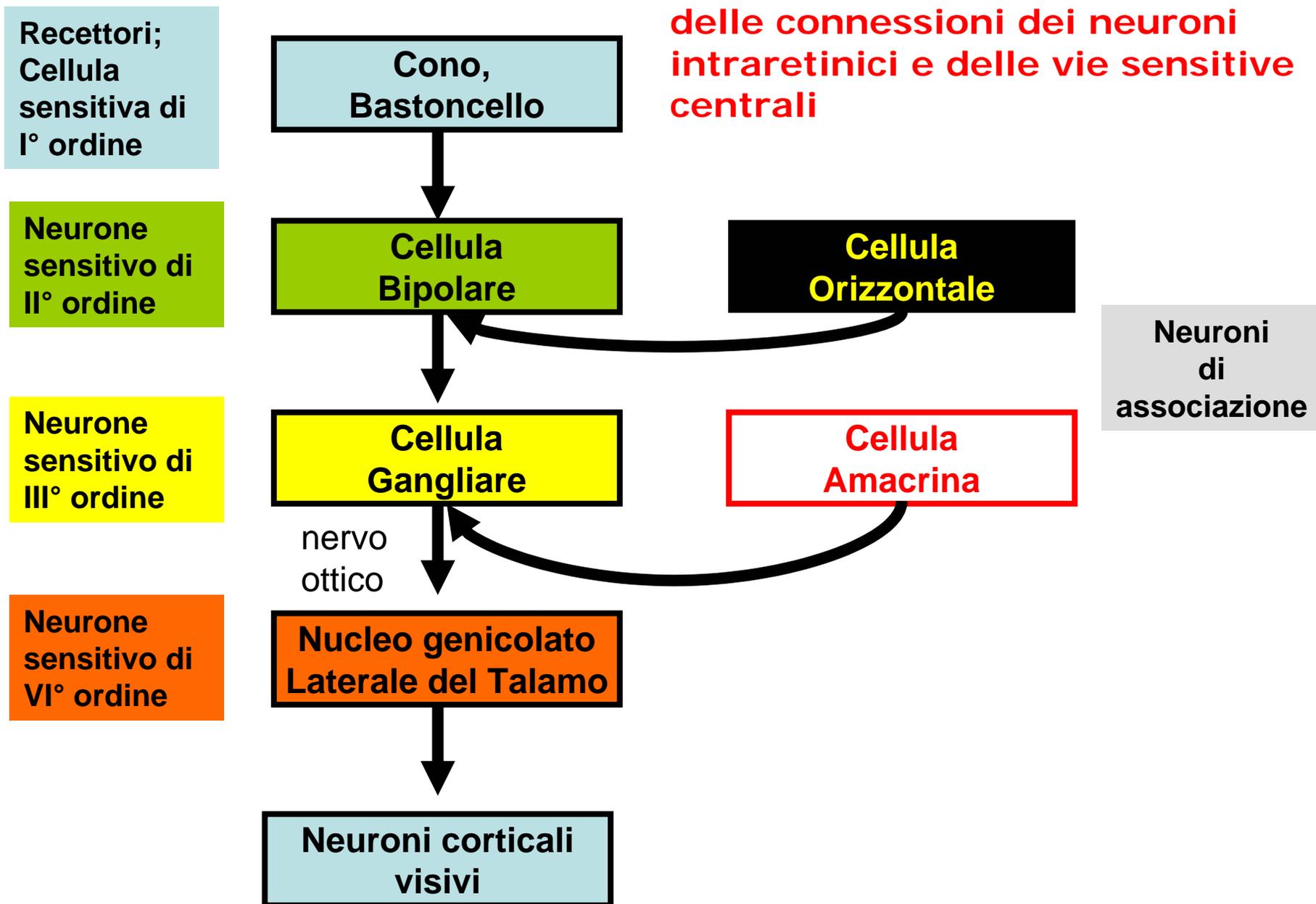
Rappresentazione dei circuiti intraretinici –

La via più diretta tra l'ingresso e l'uscita dei segnali è la via fotorecettori-cellule bipolari-cellule gangliari. Esiste anche una via indiretta fotorecettori-cellule bipolari-cellule amacrine – cellule gangliari.

Le cellule orizzontali mediano l'inibizione laterale tra vie adiacenti, mentre le cellule interplexiformi (I) permettono che gli strati interni e quelli esterni della retina possano interagire

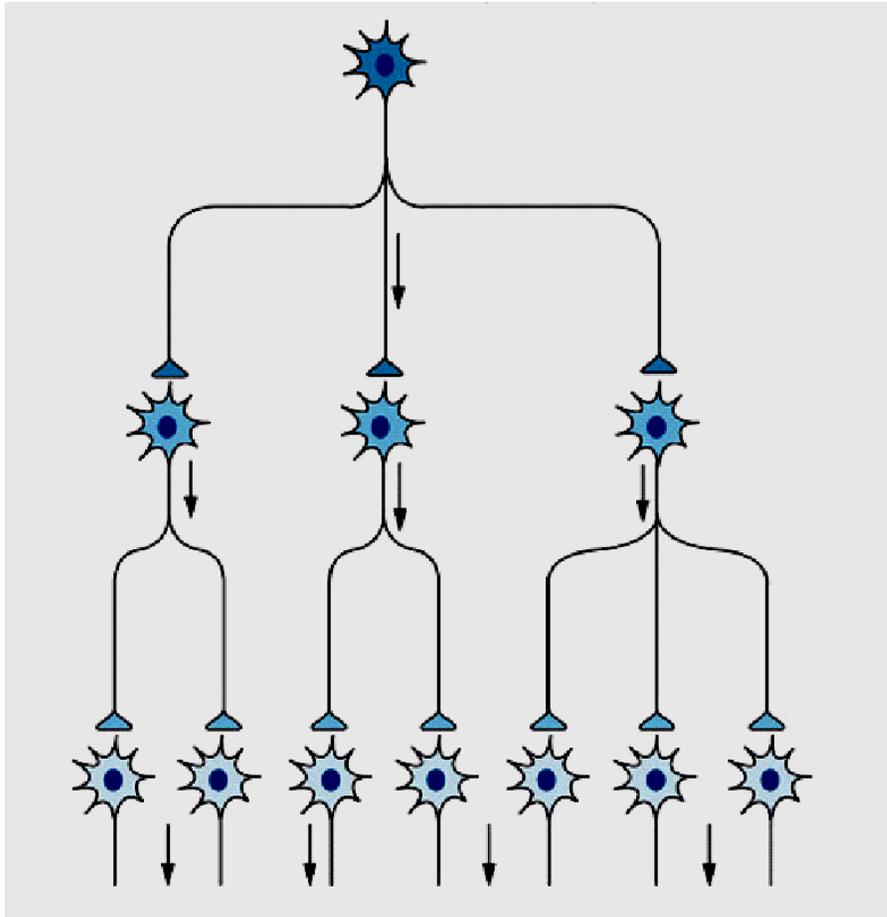


**Rappresentazione schematica
delle connessioni dei neuroni
intraretinici e delle vie sensitive
centrali**



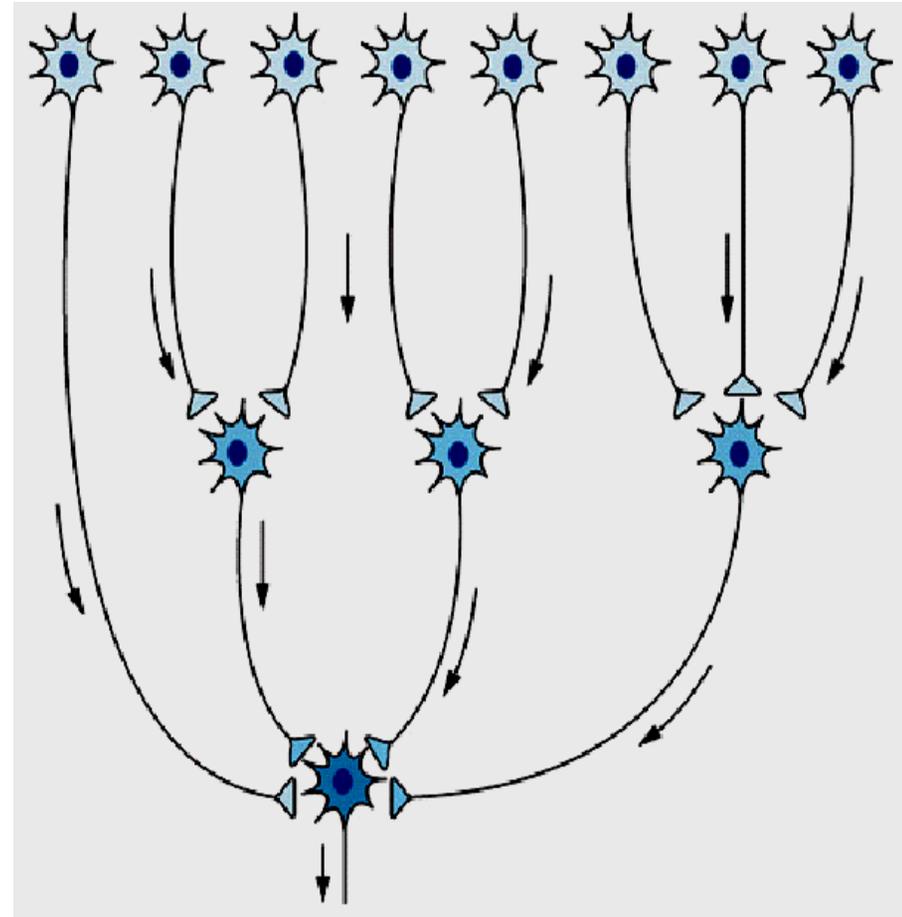
DIVERGENZA

In un circuito divergente, un singolo neurone presinaptico si ramifica per andare ad influenzare numerosi neuroni postsinaptici

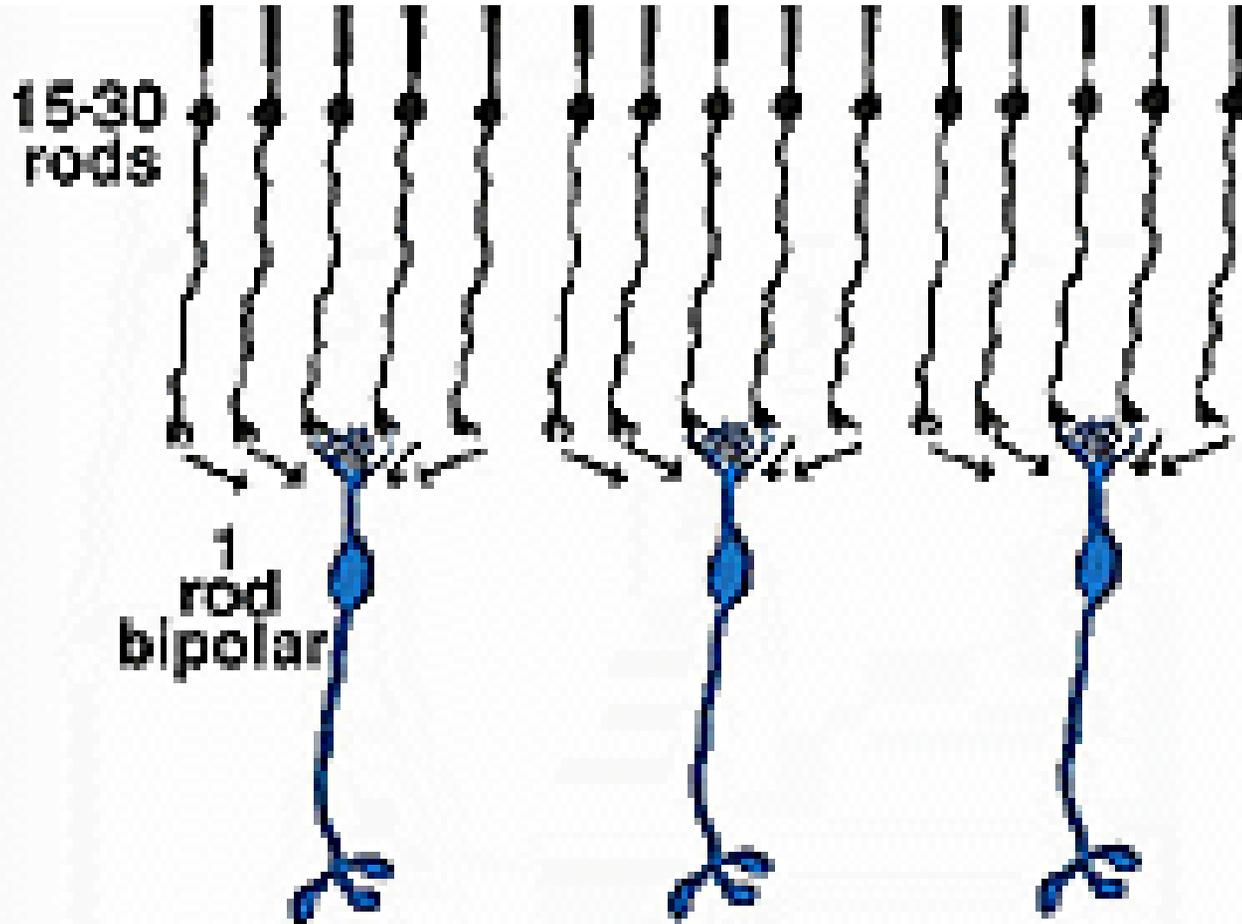


CONVERGENZA

In un circuito **convergente**, molti neuroni presinaptici convergono per influenzare un numero minore di neuroni postsinaptici



Solo un tipo morfologico di cellula bipolare è associata ai bastoncelli, e il tipo di convergenza media è di 15 - 30 bastoncelli per ogni bipolare

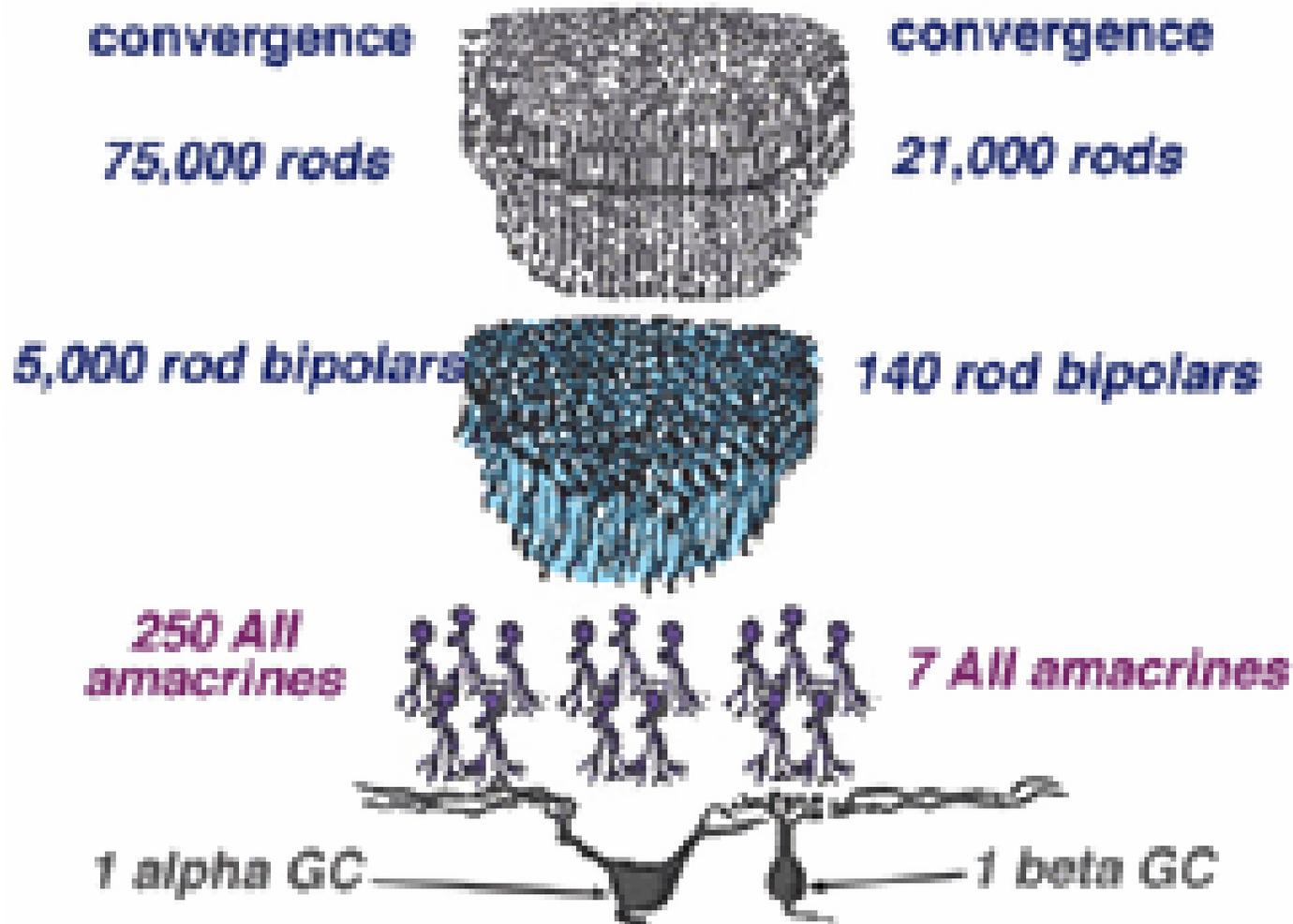


I bastoncelli sinaptano con le cellule bipolari e queste a molte e diverse cellule amacrine (le più importanti sono le amacrine A11 e quelle A17).

Esem. di convergenza del segnale dei bastoncelli in retina di gatto

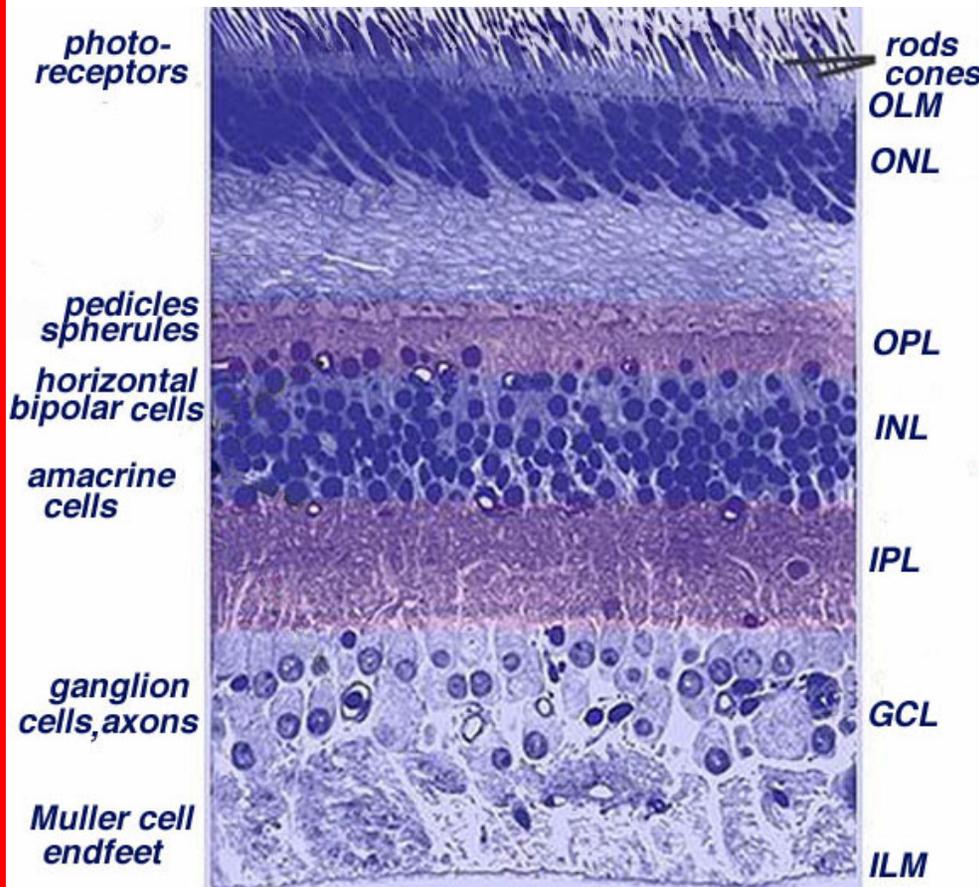
campo-largo cellule gangliari alfa-OFF

campo-stretto cellule gangliari beta-ON



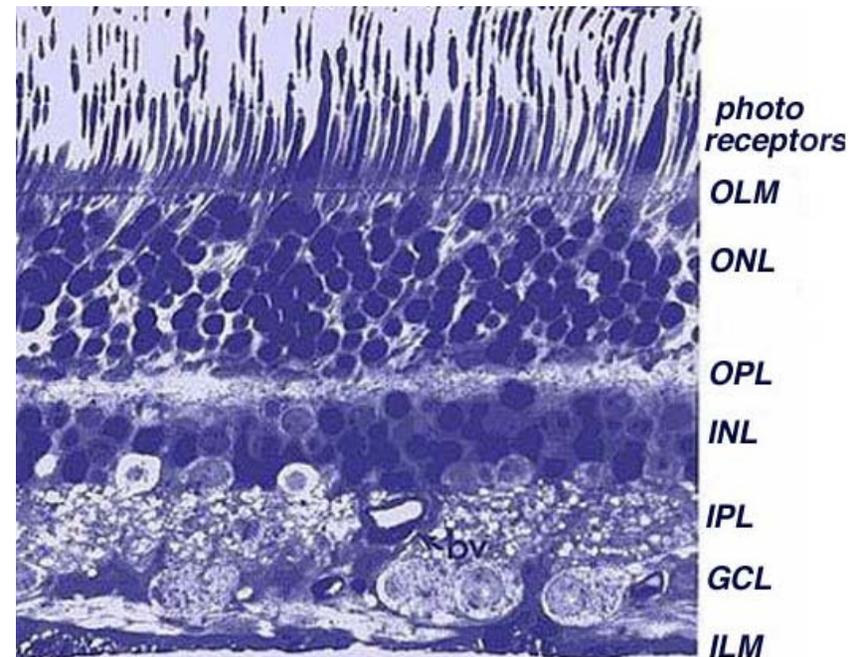
Il centro della retina vicino alla fovea è più spesso della retina periferica. Ciò è dovuto a una maggiore densità di fotorecettori in particolare dei coni, e delle cellule bipolari e gangliari associate

Retina centrale umana

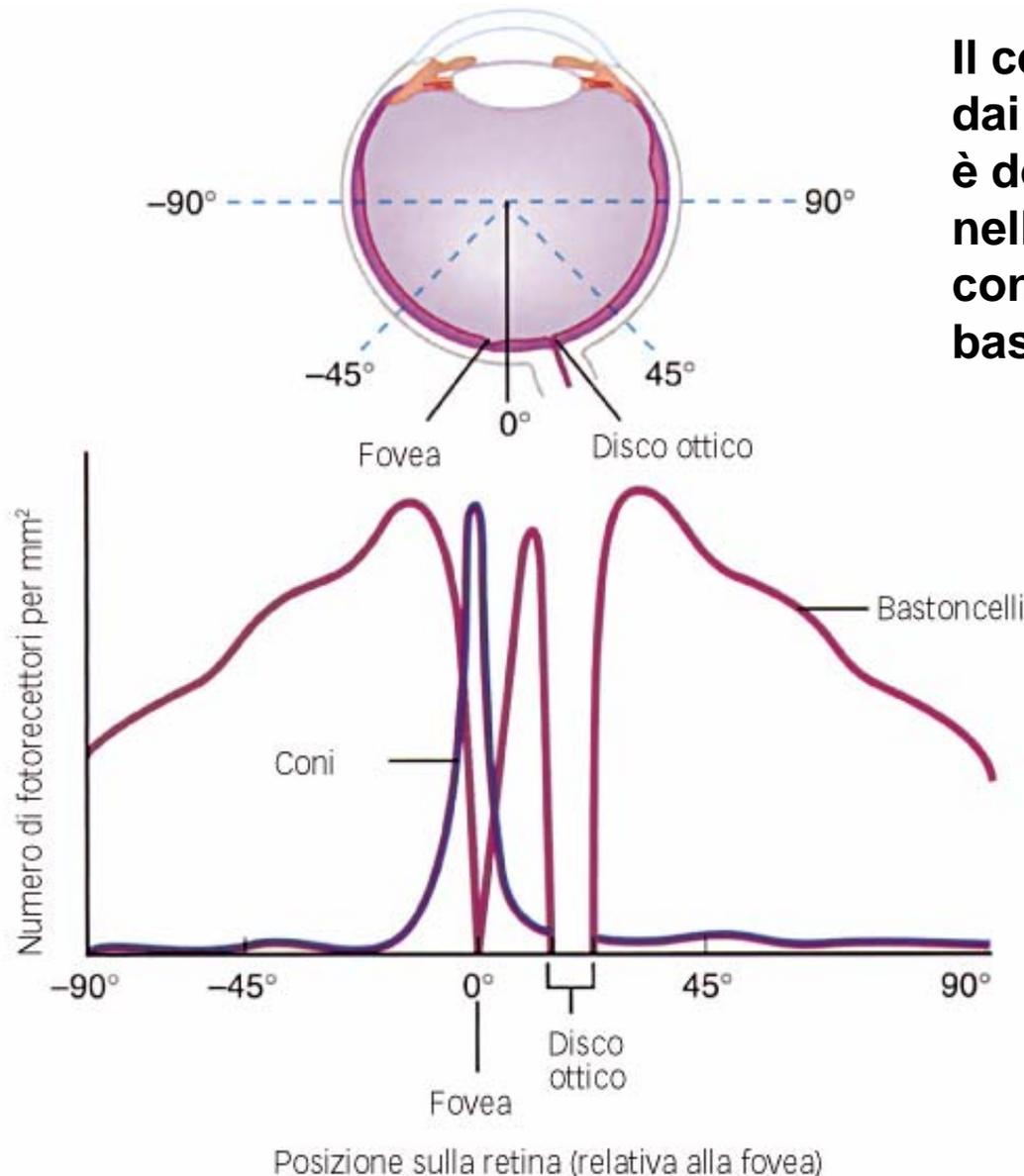


Una notevole differenza tra la retina centrale e quella periferica è nello spessore relativo dello strato plessiforme interno (IPL), nello strato delle cellule gangliari (GCL) e nello strato delle fibre nervose (NFL)

Retina periferica umana



Il centro della retina è dominato dai coni mentre la retina periferica è dominata dai bastoncelli. Quindi nella parte centrale della retina i coni sono molto ravvicinati e i bastoncelli sono poco numerosi



Struttura della Fovea

Il centro è noto come “fossa” (Polyak, 1941) ed è una regione altamente specializzata. La sezione radiale misura 200 micron. La fossa è un’area dove i coni sono concentrati al massimo e i bastoncelli sono assenti

Human fovea

cones only

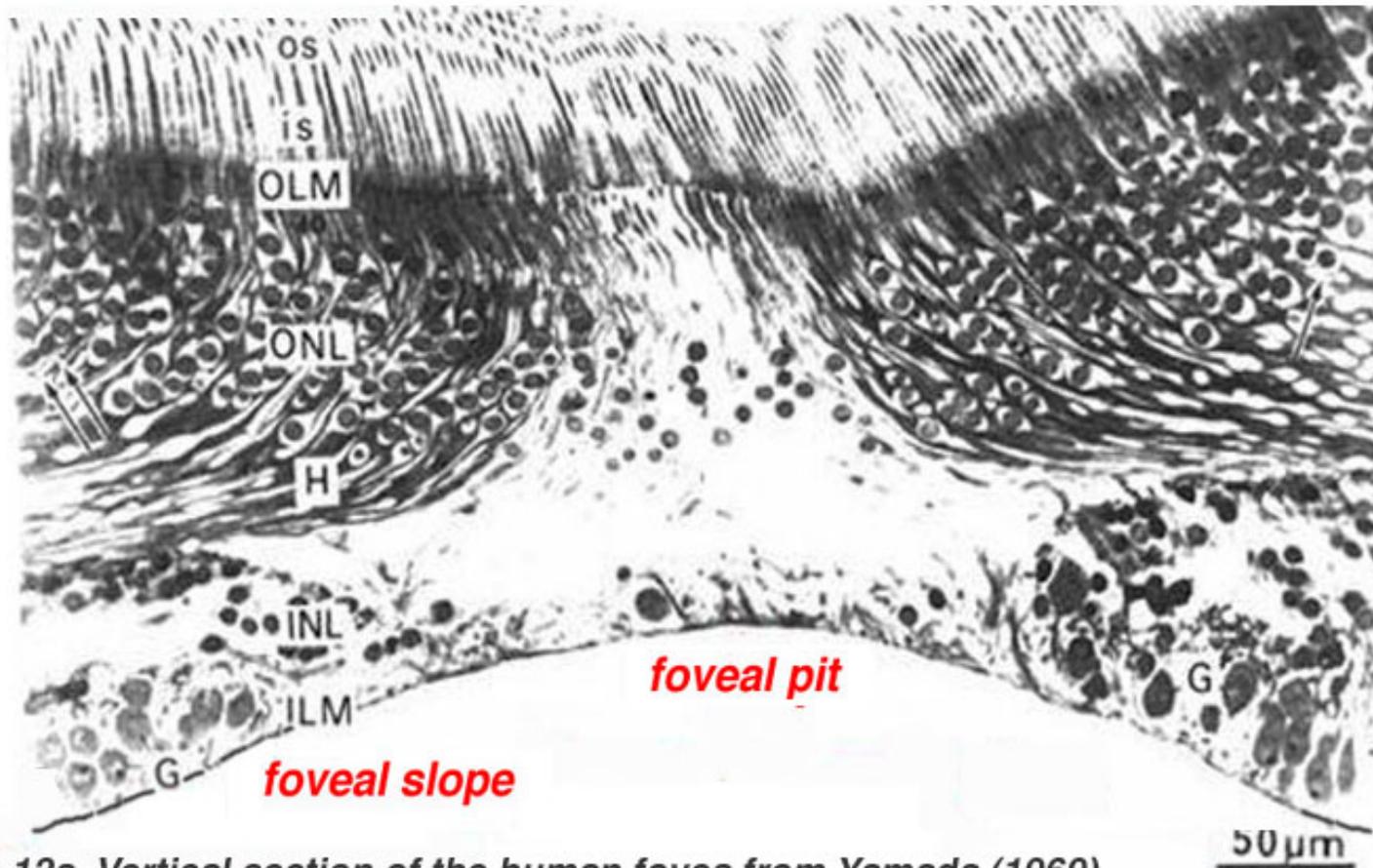
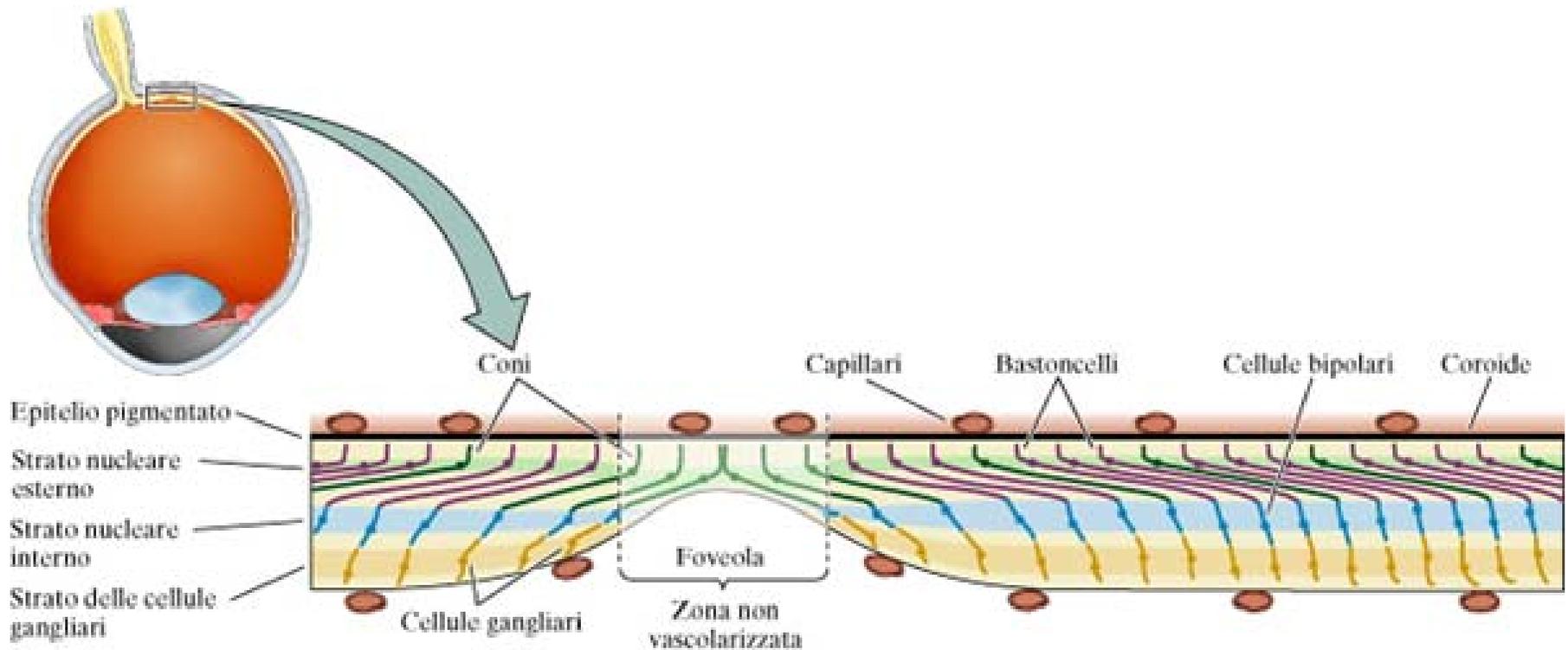


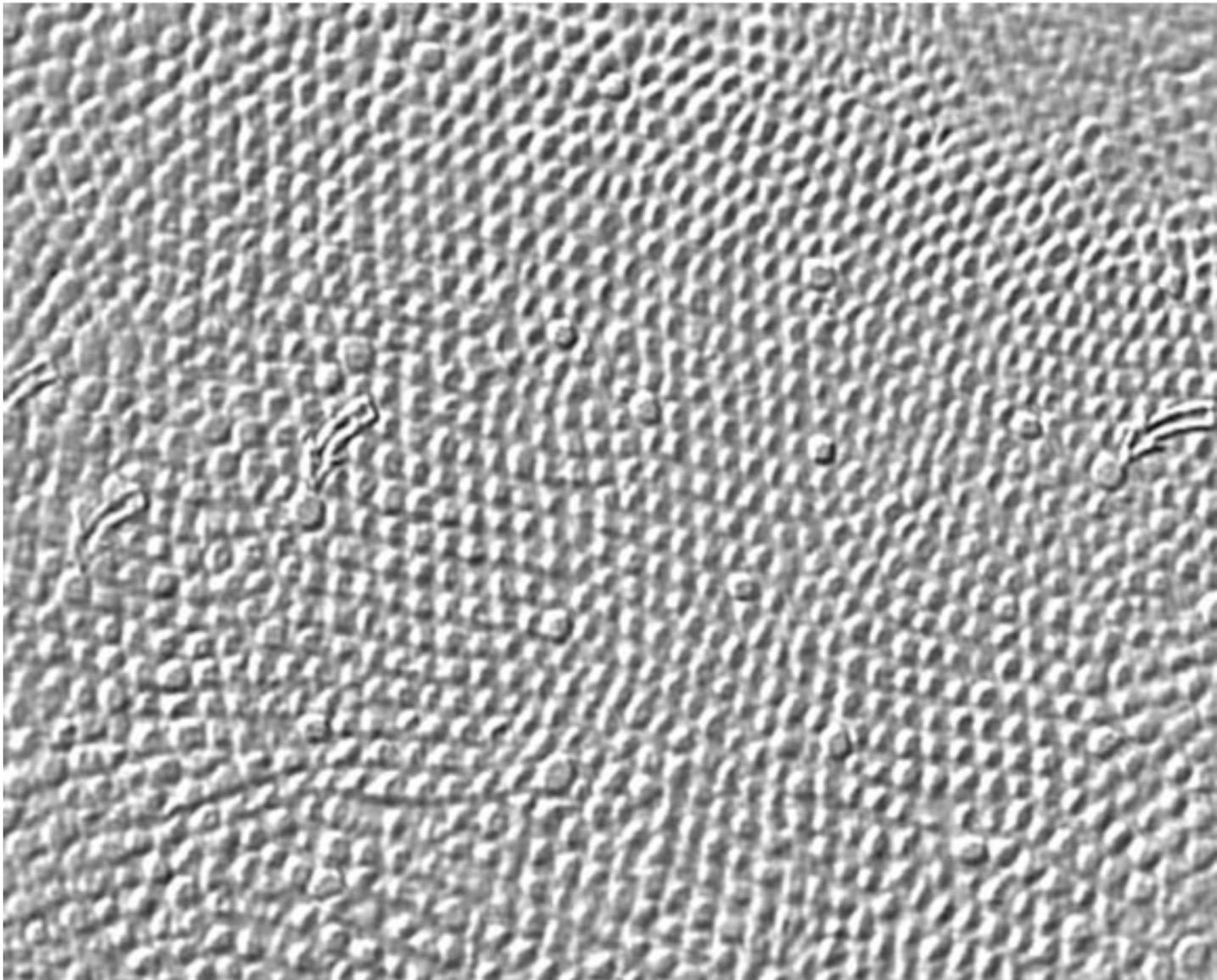
Fig. 12a. Vertical section of the human fovea from Yamada (1969).

os, outer segments; is, inner segments; OLM, outer limiting membrane; ONL, outer nuclear layer; H, Henle fibers; INL, inner nuclear layer; ILM, inner limiting membrane; G, ganglion cells

Schema della sezione trasversale della fovea umana

Gli strati cellulari e i vasi sanguigni, sovrapposti nelle regioni circostanti della retina, qui sono spostati lateralmente in modo che i raggi luminosi subiscano una minore dispersione prima di colpire i segmenti esterni dei coni localizzati nell'area centrale della fovea, o foveola





***Fig. 13. Tangential section through the human fovea.
Larger cones (arrows) are blue cones.***

Macula lutea

L'intera area foveale che include la fossetta con parafovea e perifovea è la macula.

La pigmentazione gialla dell'area maculare è detta macula lutea. La pigmentazione è dovuta ai pigmenti gialli carotenoidi *zeaxantina* e *luteina* (Balashov and Bernstein, 1998), presenti nei coni. La macula lutea agisce come un filtro a corta lunghezza d'onda in aggiunta a quello costituito dalle lenti (Rodieck, 1973). **Essendo la fovea la parte più importante della retina si richiedono protezioni extra contro la luce forte, specialmente le radiazioni ultraviolette.**

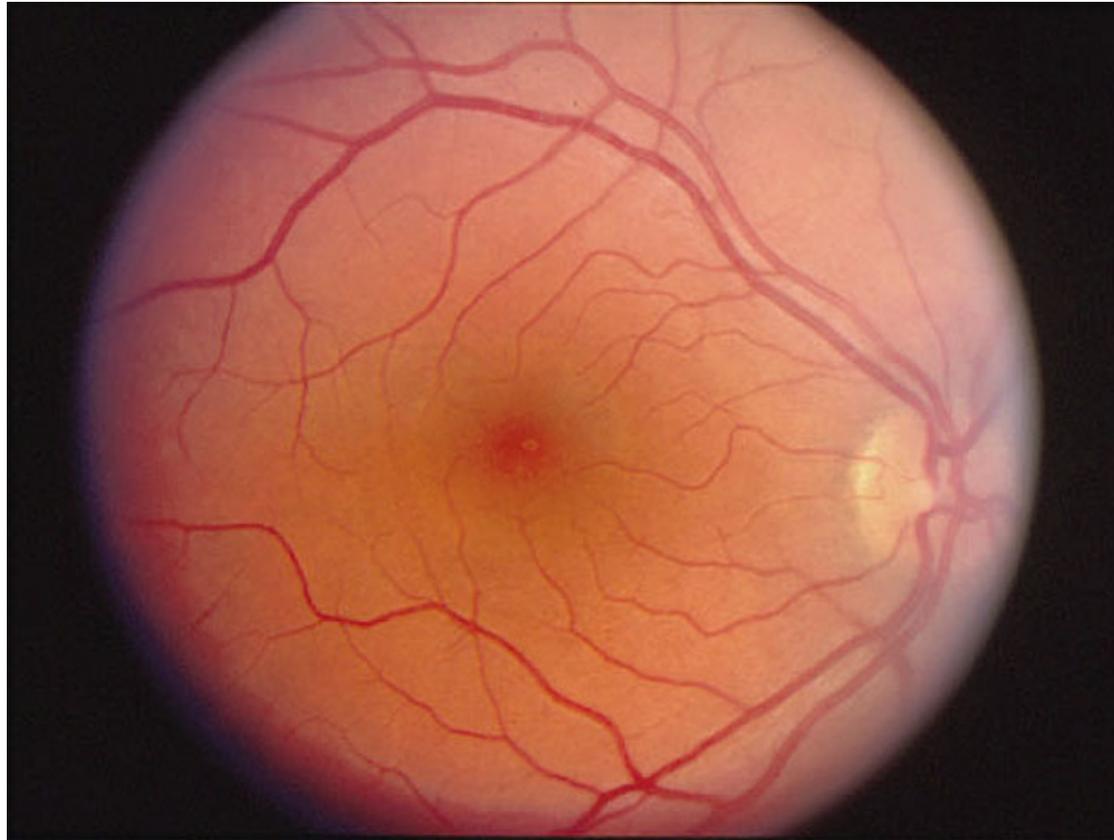
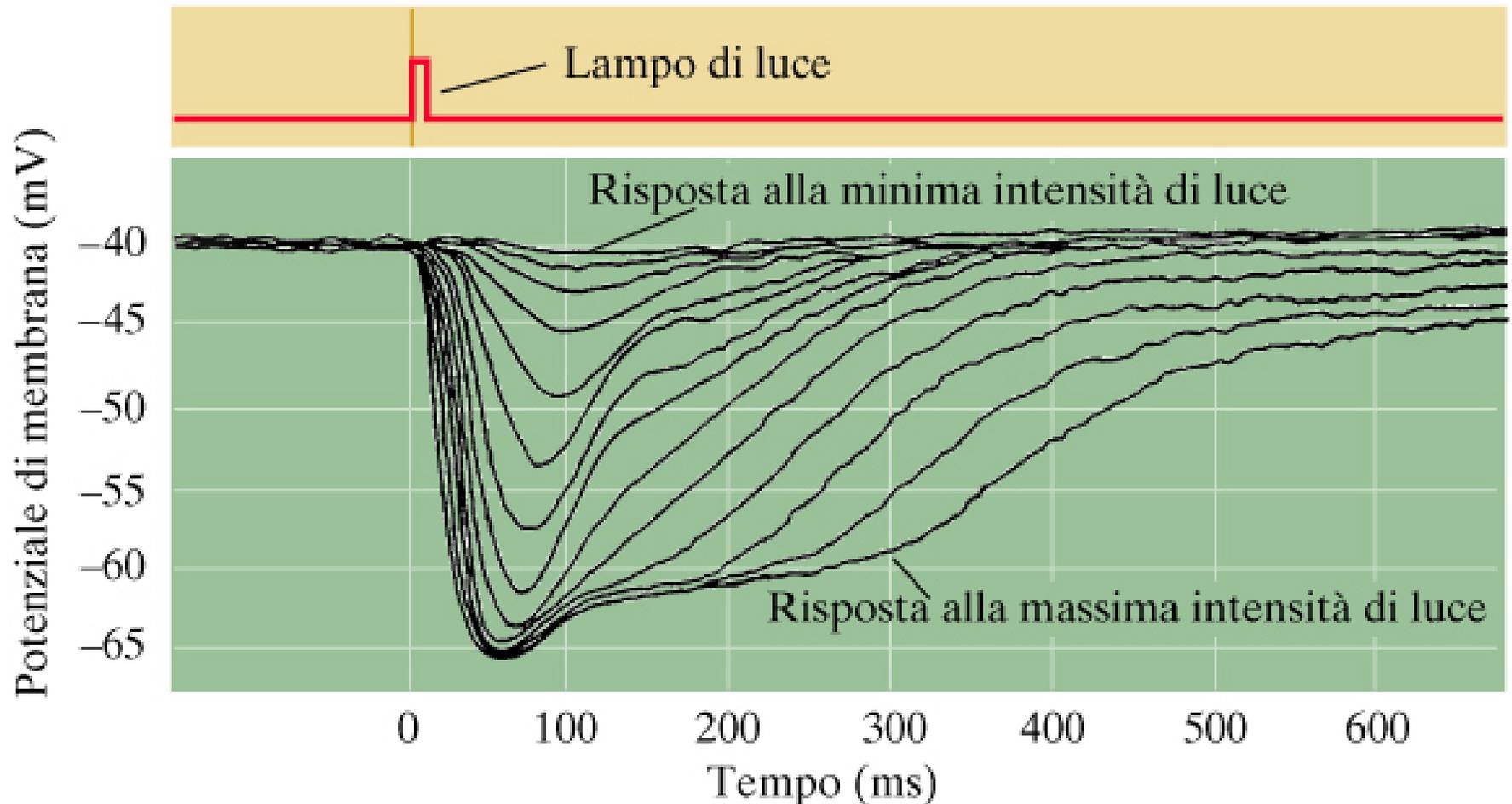


Fig. 14. Ophthalmoscopic appearance of the retina to show the macula lutea (yellow around fovea).

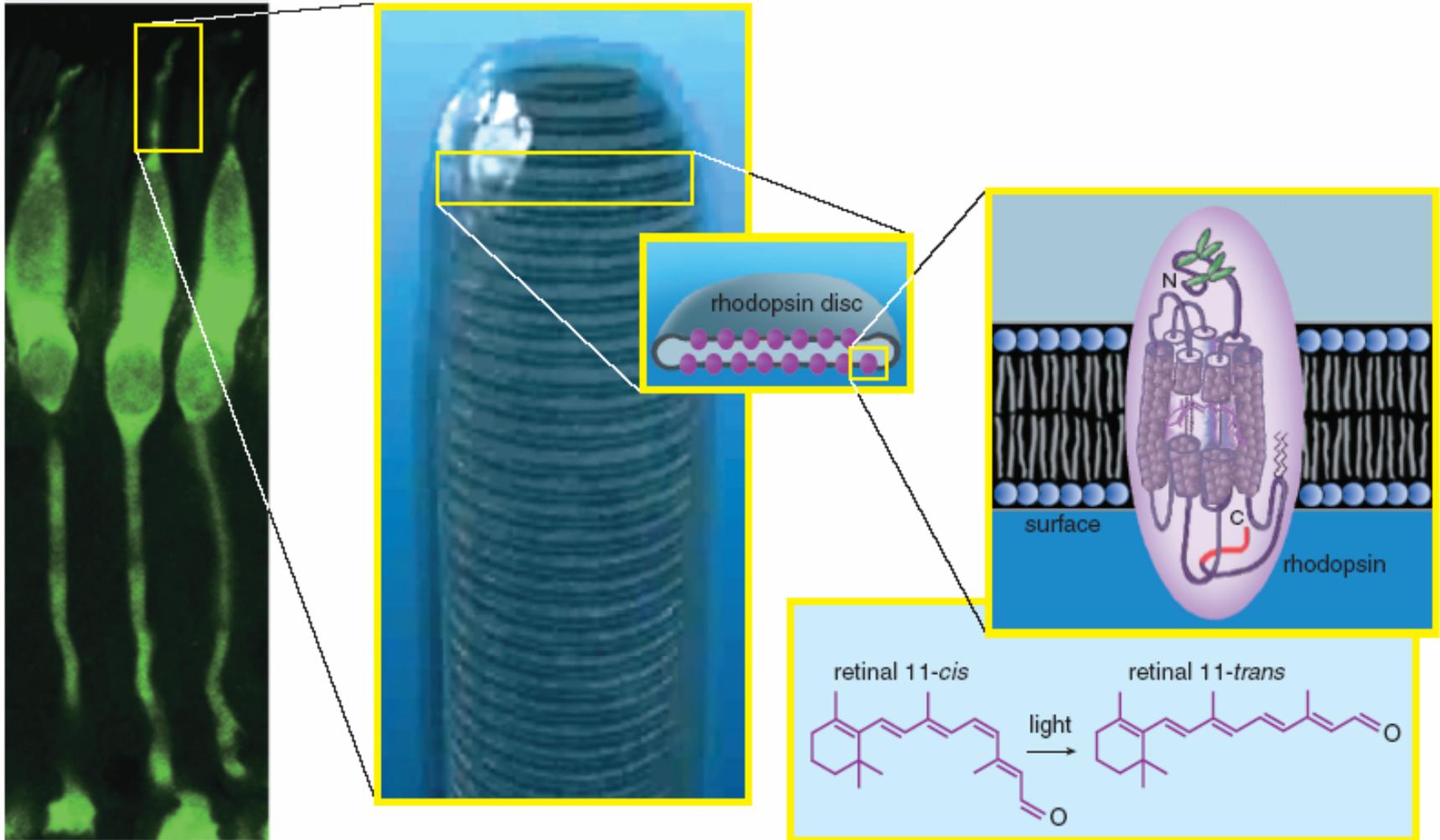
FOTOTRASDUZIONE

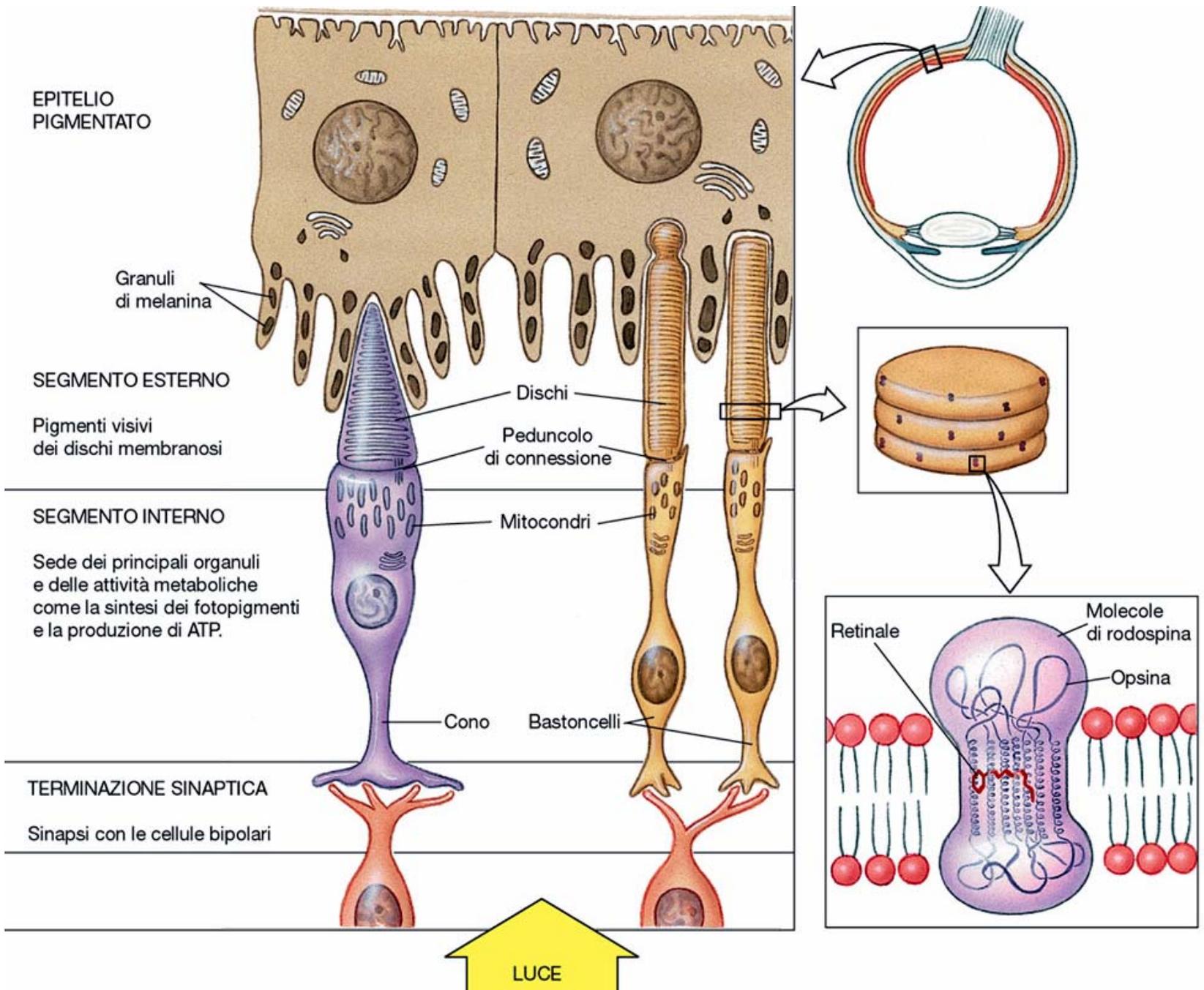
La luce che colpisce un fotorecettore, sia esso un bastoncello o un cono, porta a una iperpolarizzazione della membrana cellulare piuttosto che alla sua *depolarizzazione*

Registrazione intracellulare di un singolo cono stimolato con luce di intensità variabile. Ciascuna traccia rappresenta la risposta a un breve lampo di luce di intensità variabile

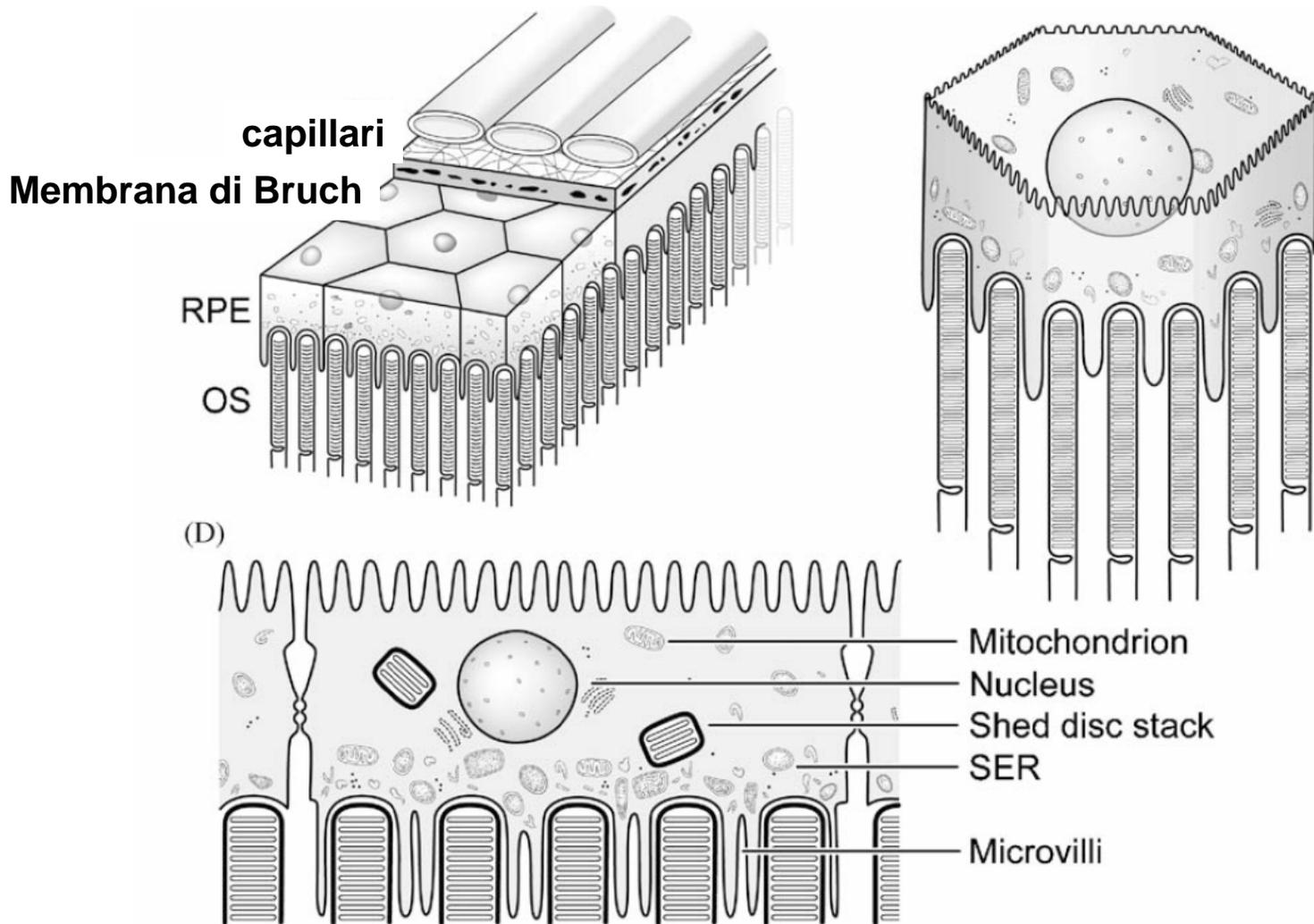


Cono colorato in fluorescenza. Coni e bastoncelli mostrano un insieme di membrane impacchettate a formare i “dischi”. Le membrane dei dischi contengono copie di “RODOPSINA”. Ogni rodopsina è costituita da una proteina trans-membrana (opsina) che contiene nel suo interno una molecola di retinale. Alla luce, uno dei legami del retinale ruota cambiando la forma della proteina





Ogni cellula epiteliale pigmentata copre 19 coni (30 coni nella fovea)
Ogni cellula epiteliale pigmentata copre 20 bastoncelli (in periferia 22 e nella zona di massima densità (4-5 mm dal centro fovea) 28





outer segment

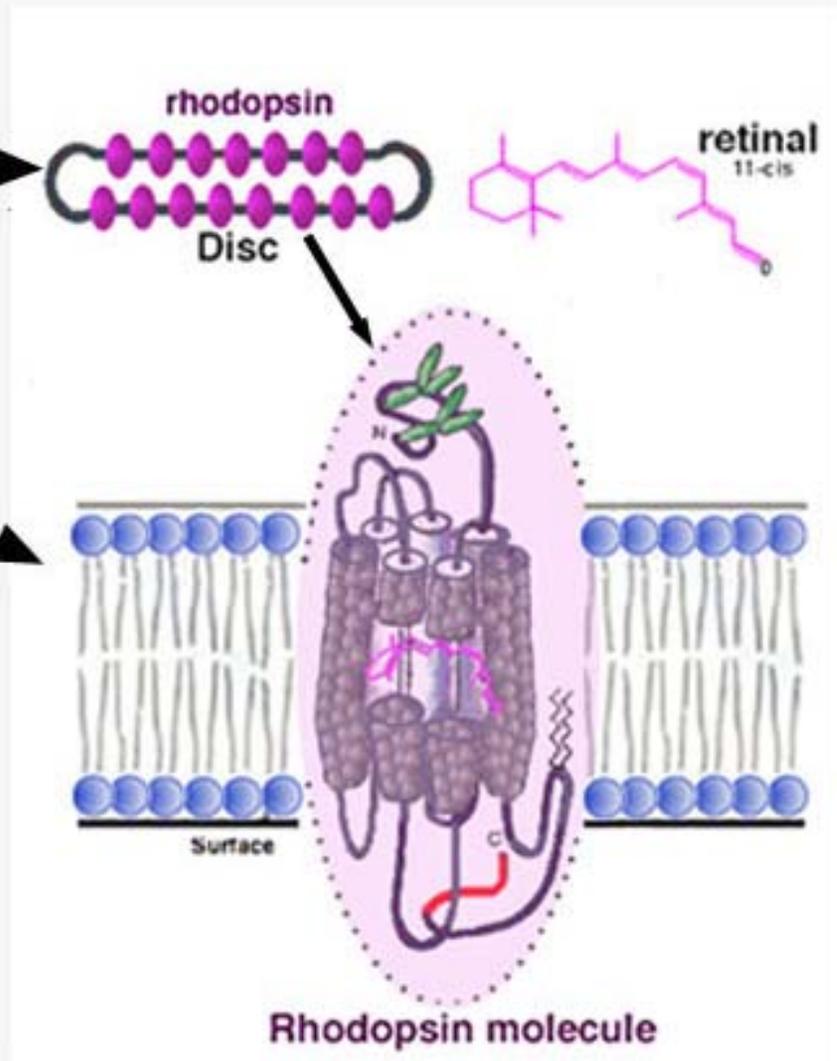
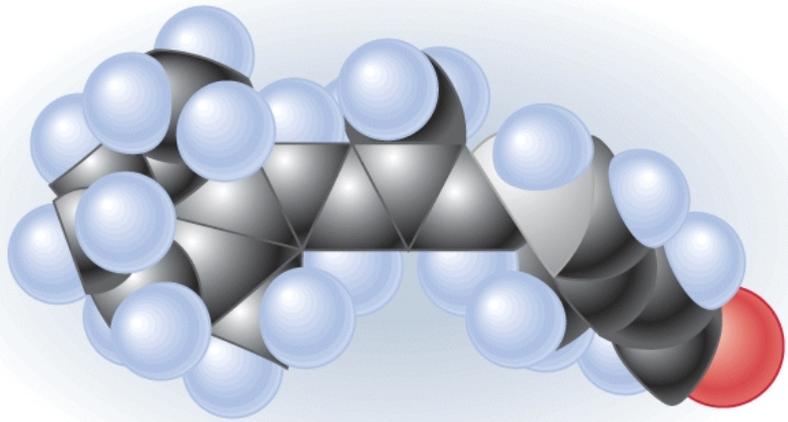
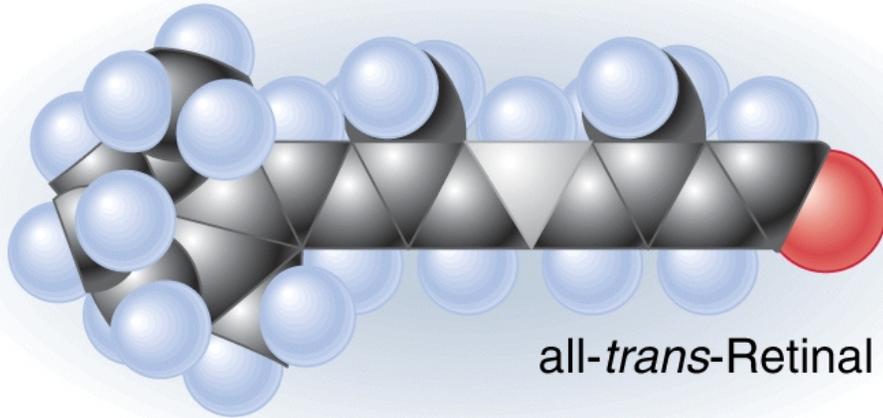


Fig 8. Schematic diagram of Rhodopsin in the outer segment discs.

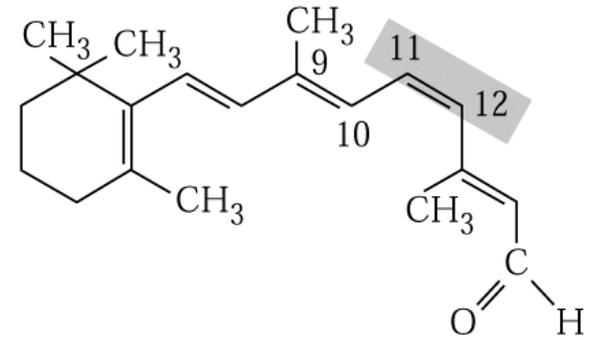


11-*cis*-Retinal

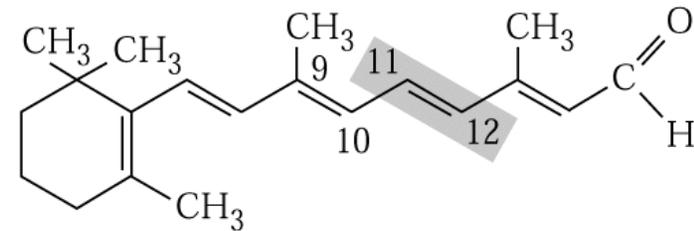
Luce



all-*trans*-Retinal



11-*cis*-Retinal



all-*trans*-Retinal

Steinberg, Fisher & Anderson, 1980

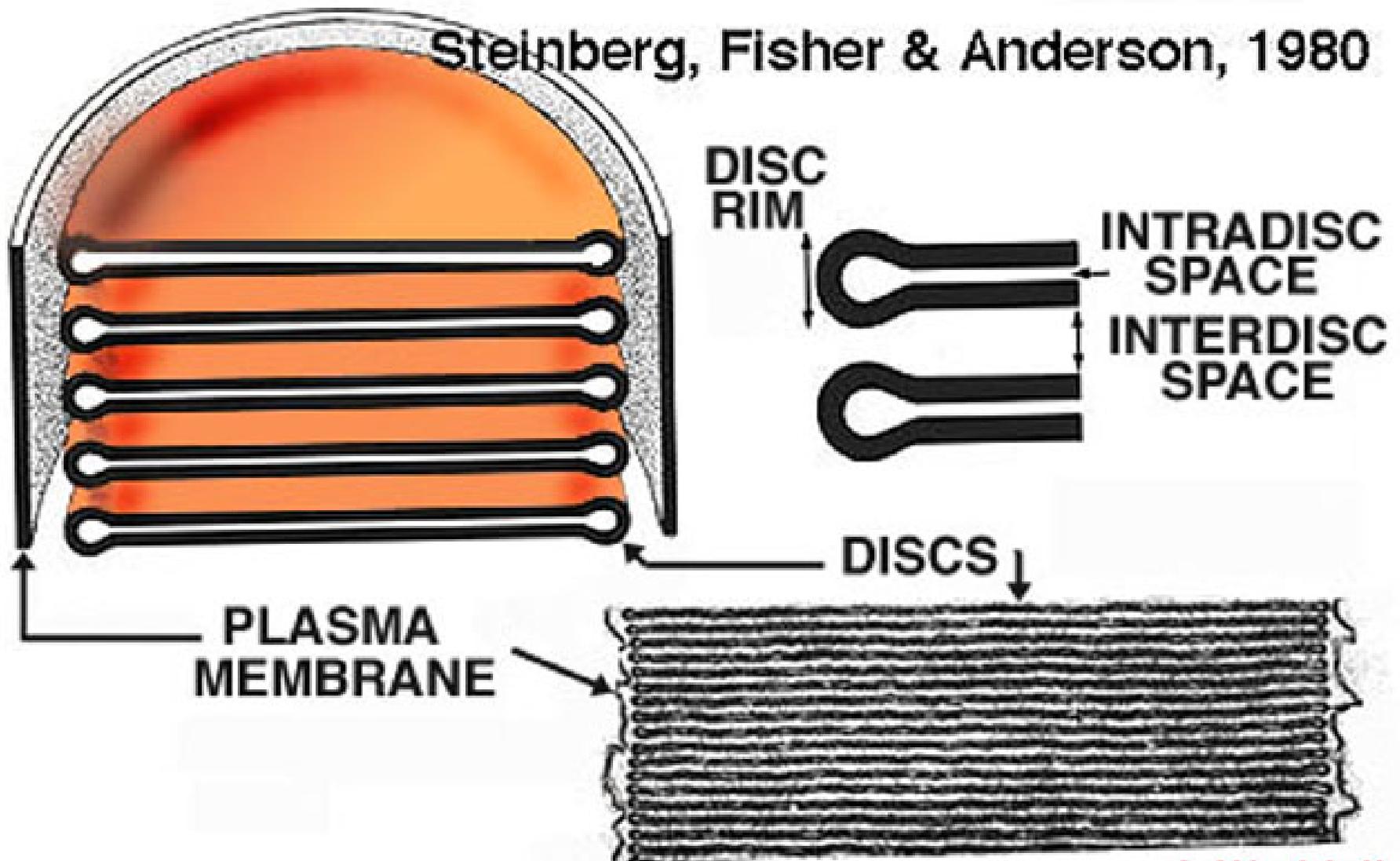
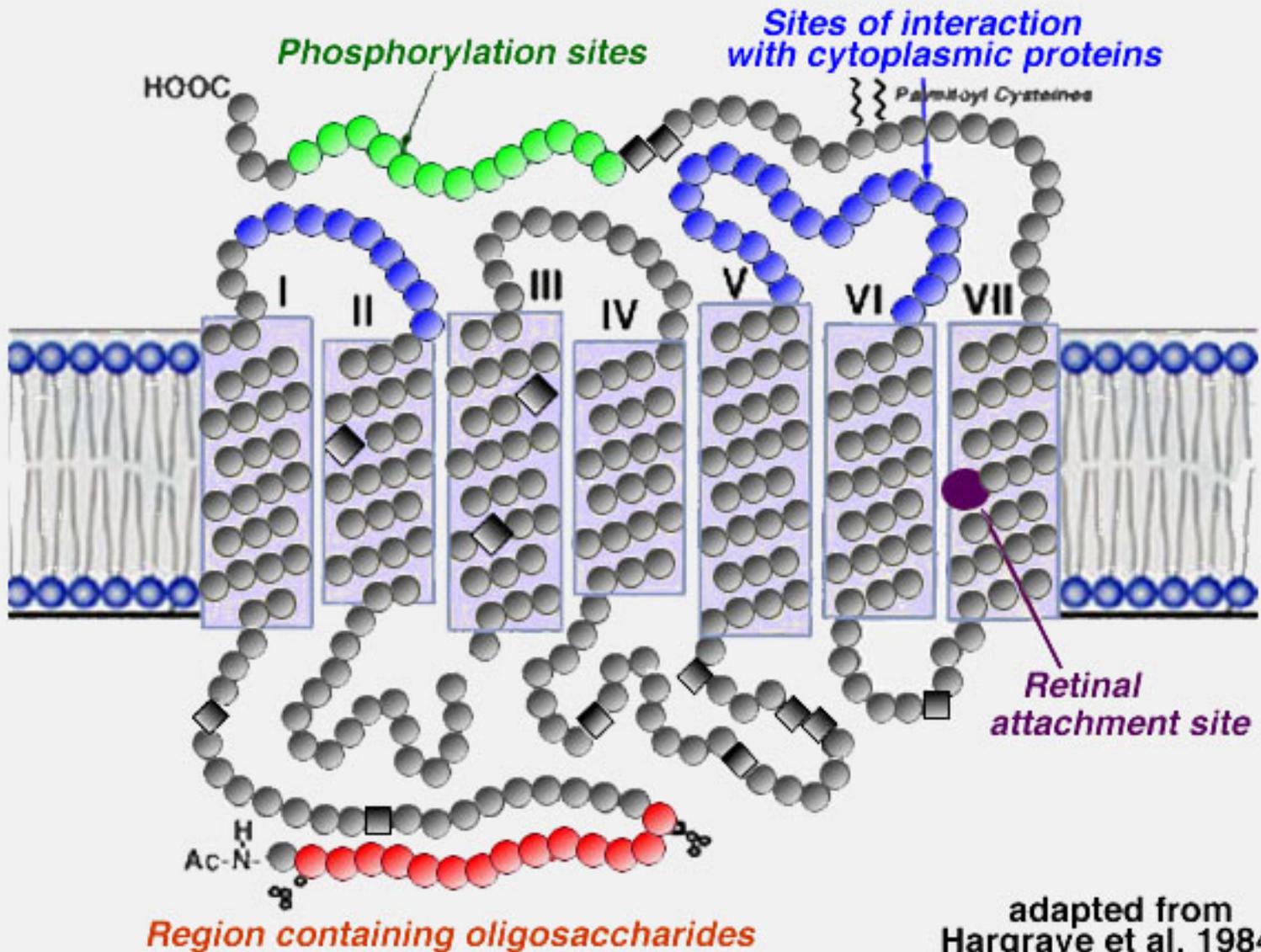


Fig. 6. Drawing of rod outer segment discs.



adapted from
Hargrave et al. 1984
Piantanida, 1991

Fig. 9. Structural model of rhodopsin showing seven transmembrane components and the attachment site for retinal.

Pigment	1	2	3	4	5	Proportion of identical nucleotides (amino acids) for pair of opsin genes in humans (%)
1. Rhodopsin (B)		93.4	45.4	43.5	42.4	B bovine
2. Rhodopsin (H)	89.7		46.6	44.7	43.5	Values above the diagonal are at the aa level; those below the diagonal are at the nucleotide level.
3. Blue pigment (H)	58.8	57.5		44.0	42.8	
4. Green pigment (H)	57.8	56.6	55.2		95.9	
5. Red pigment (H)	57.4	56.2	54.8	97.7		

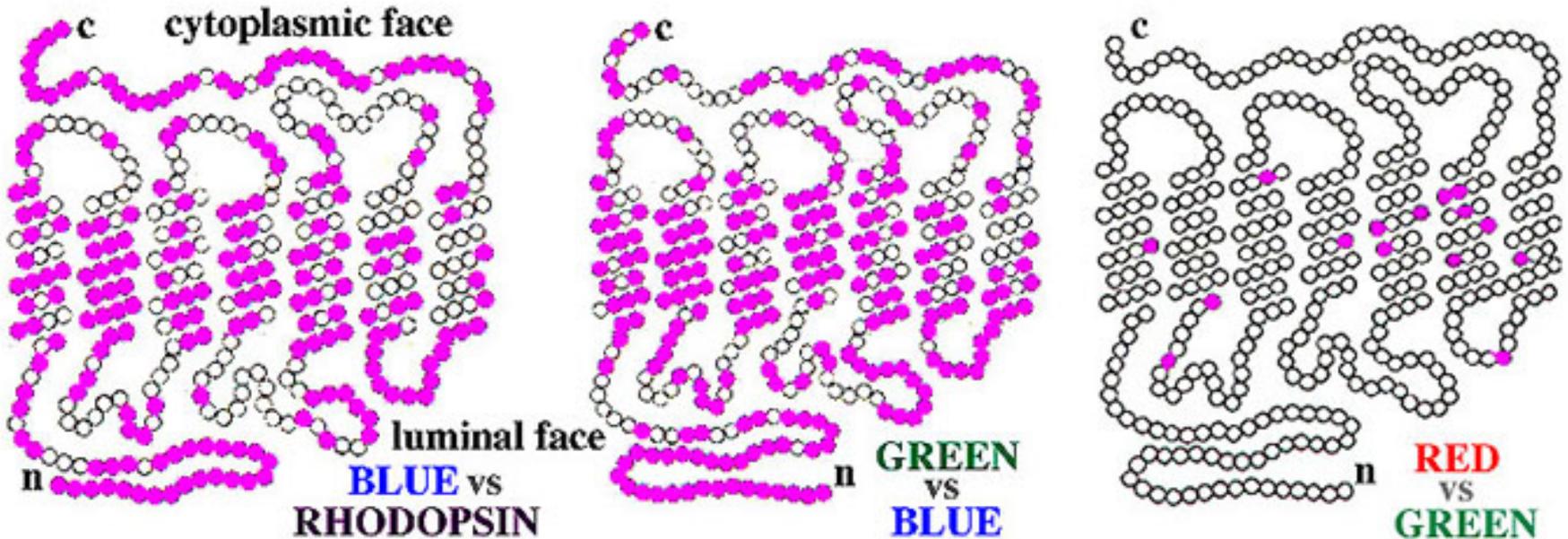


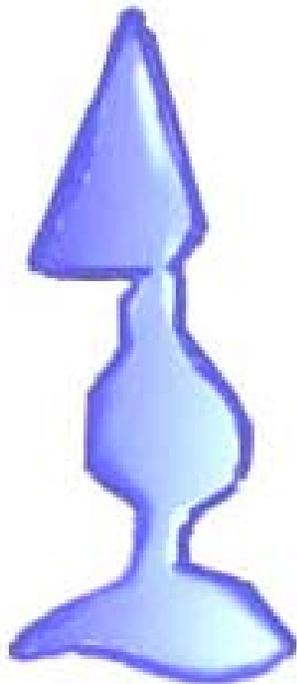
Fig. 12. The closely related molecular structure of the cone opsins. The blue-cone opsin compared with rhodopsin. The blue cone opsin compared with the green opsin and the minimal difference between the red and green cone opsins. The pink filled circles represent amino acid substitutions between these molecules. The open circles indicate identical amino acids. Adapted from Nathans et al., 1986.

Tre tipi di coni:

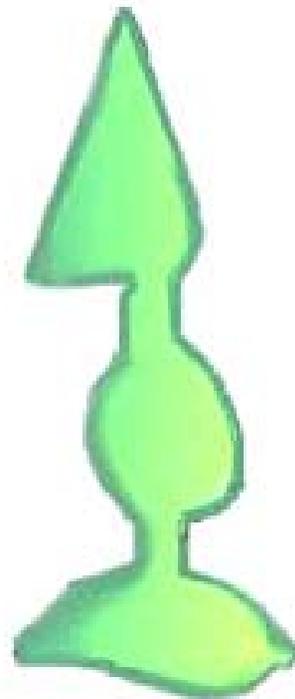
L, più sensibili alla luce rossa (610 nm) (**Long** wavelength)

M, più sensibili alla luce verde (560 nm) (**Medium**)

S, più sensibile alla luce blu (430 nm) (**Short**)



*short-wave
cone*



*middle-wave
cone*



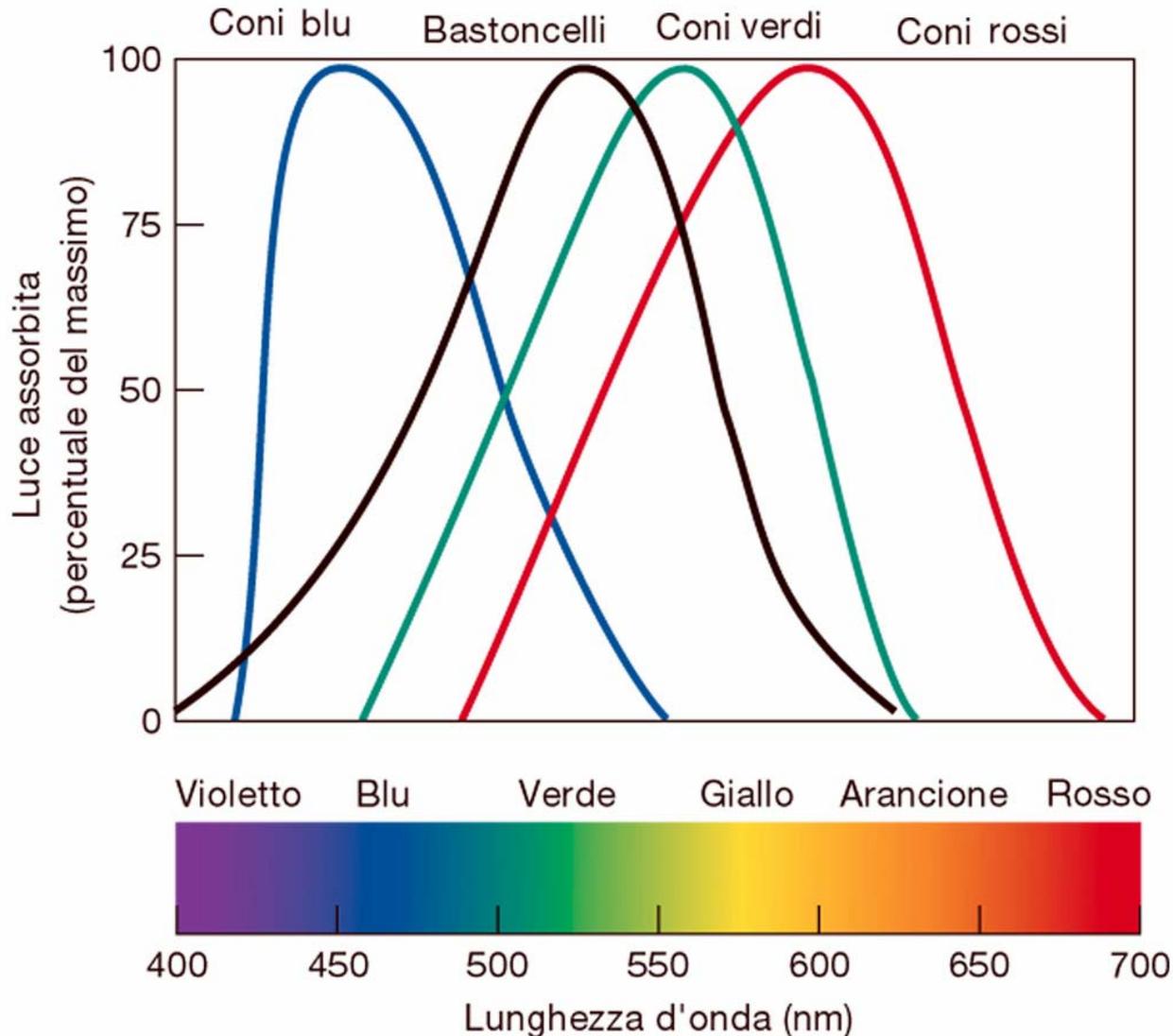
*long-wave
cone*



*rod
cone*

L'assorbimento della luce da parte dei pigmenti visivi

Tre sono i tipi di pigmento nei coni, ognuno con un caratteristico spettro di assorbimento della luce



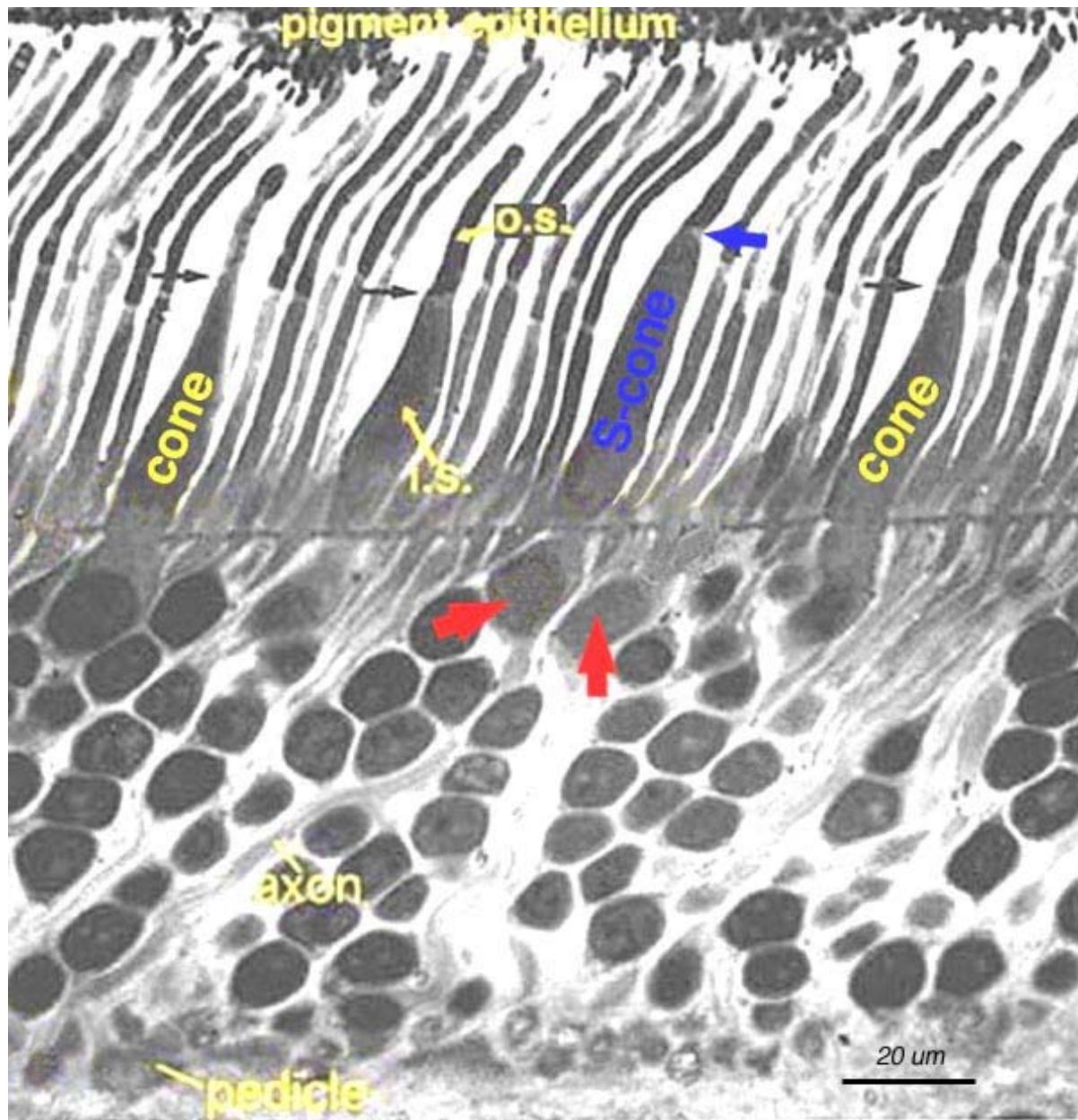


Fig. 1a. Semithin section of human outer retina to show the rods and cones. Short wavelength cones (blue cones) are commonly found occurring next to a neighbouring longer wavelength cone (red arrows).

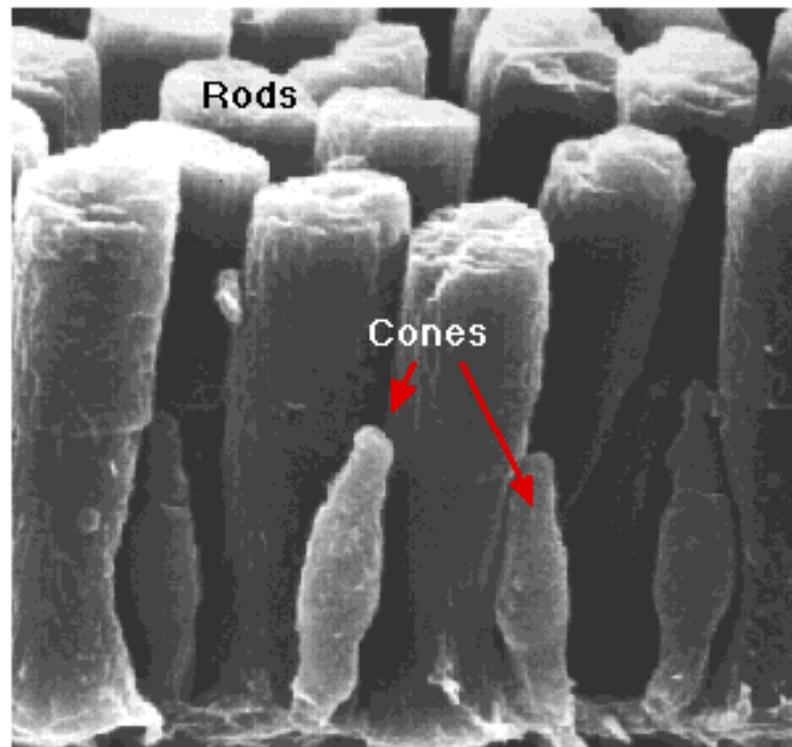
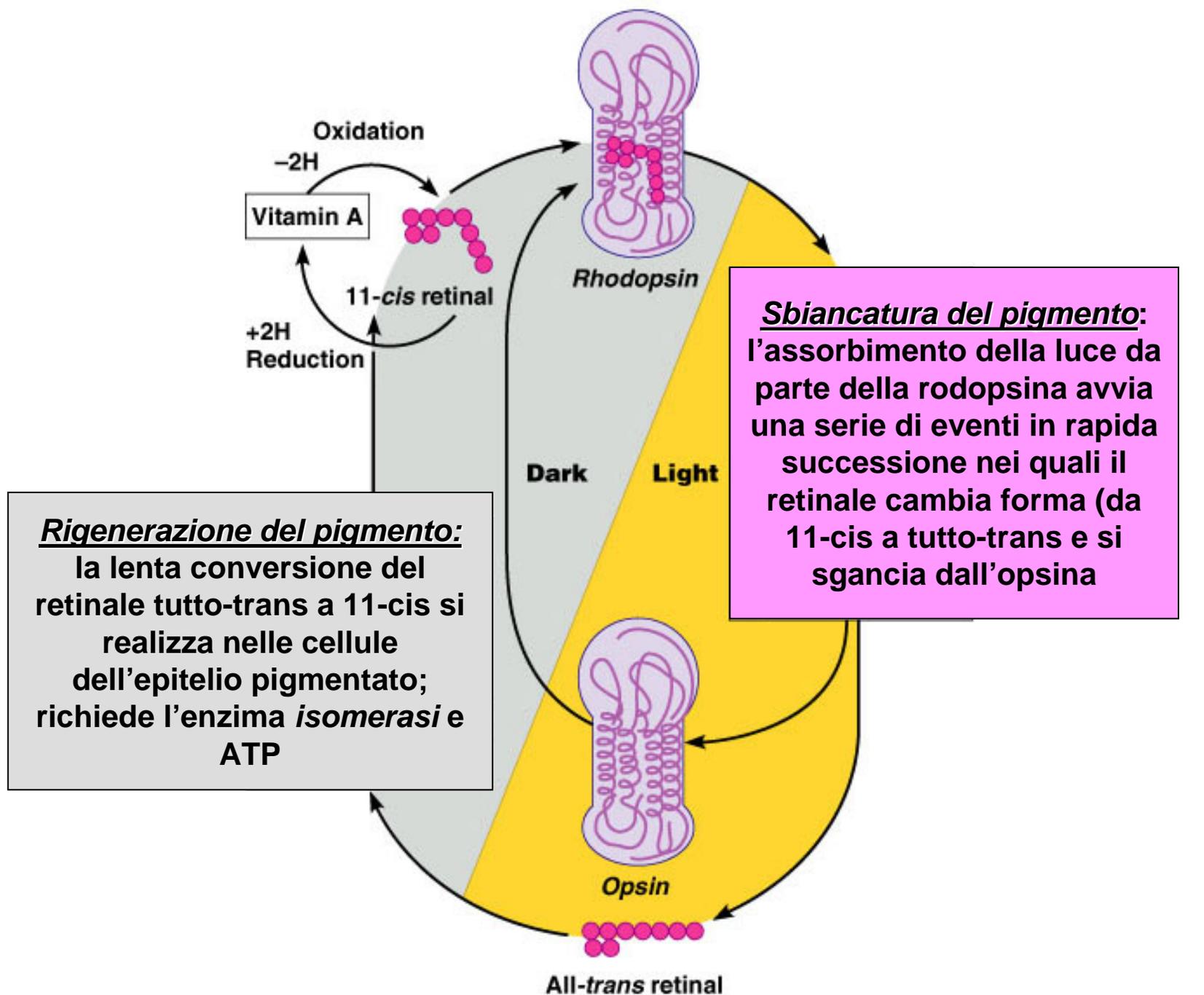


Fig1b. Scanning electron micrograph of the rods and cones of the primate retina. Image adapted from one by Ralph C. Eagle/Photo Researchers, Inc.



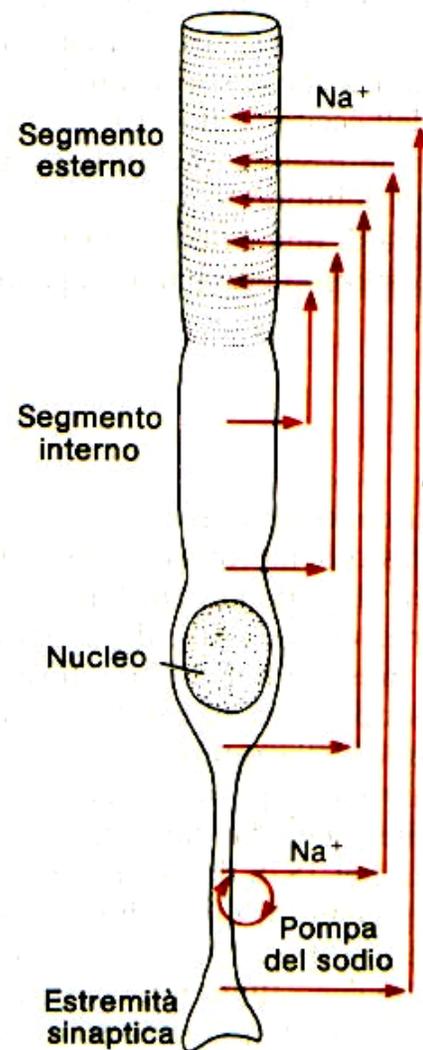
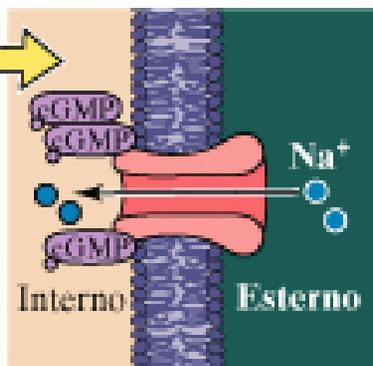
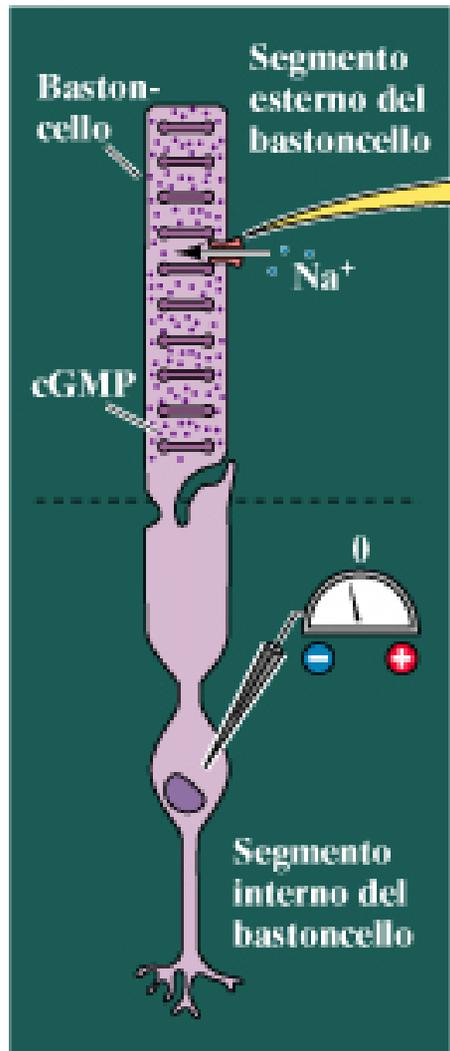
Rigenerazione del pigmento:
 la lenta conversione del retinale tutto-trans a 11-cis si realizza nelle cellule dell'epitelio pigmentato; richiede l'enzima *isomerasi* e ATP

Sbiancatura del pigmento:
 l'assorbimento della luce da parte della rodopsina avvia una serie di eventi in rapida successione nei quali il retinale cambia forma (da 11-cis a tutto-trans e si sgancia dall'opsina)

I fotorecettori possiedono canali ionici (per il Na^+ e per il Ca^{2+}) sensibili al cGMP i quali risultano aperti al buio. Questo perché al buio ci sono livelli elevati di cGMP nel segmento esterno. Questo flusso ionico provoca la “corrente al buio”

Buio

Corrente al buio massimale

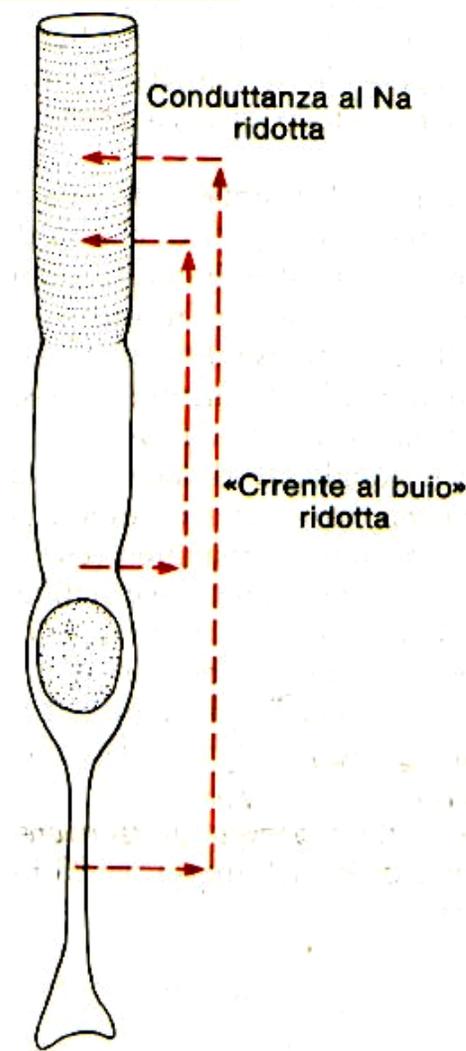
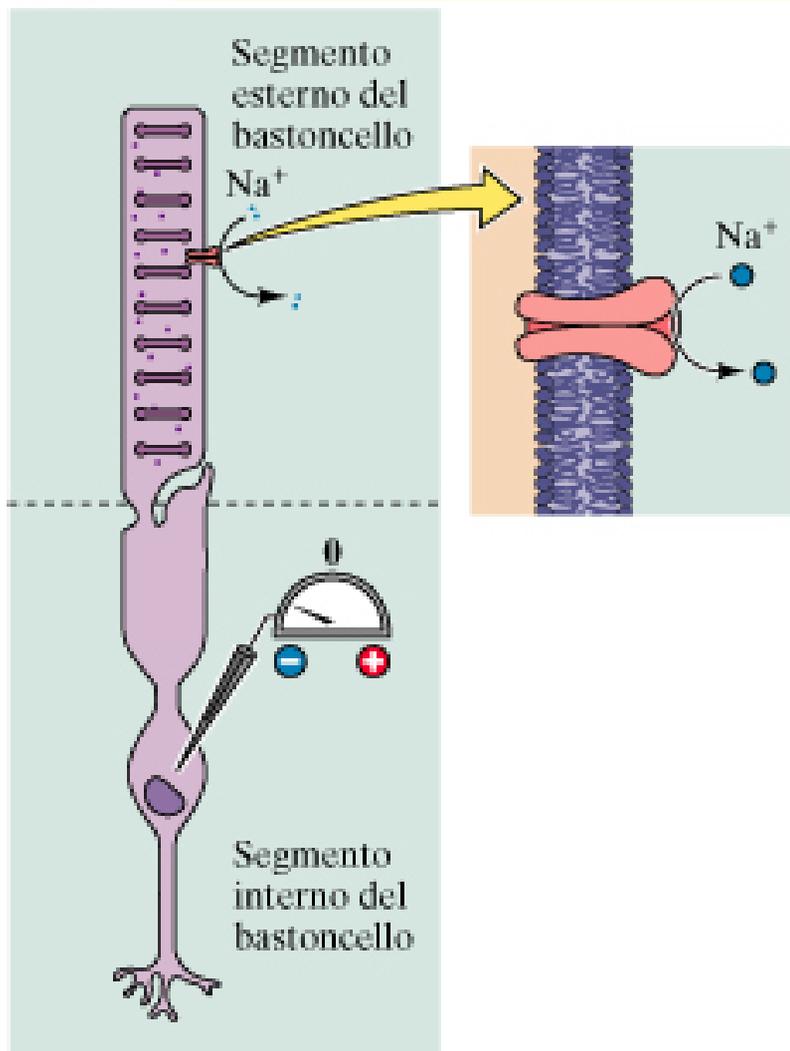


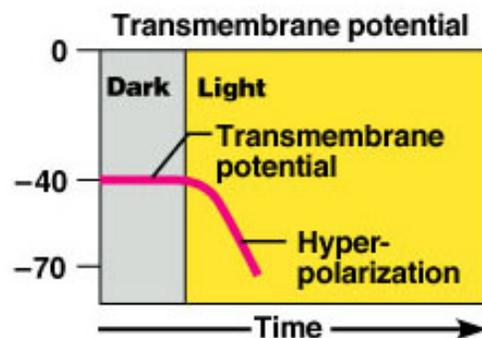
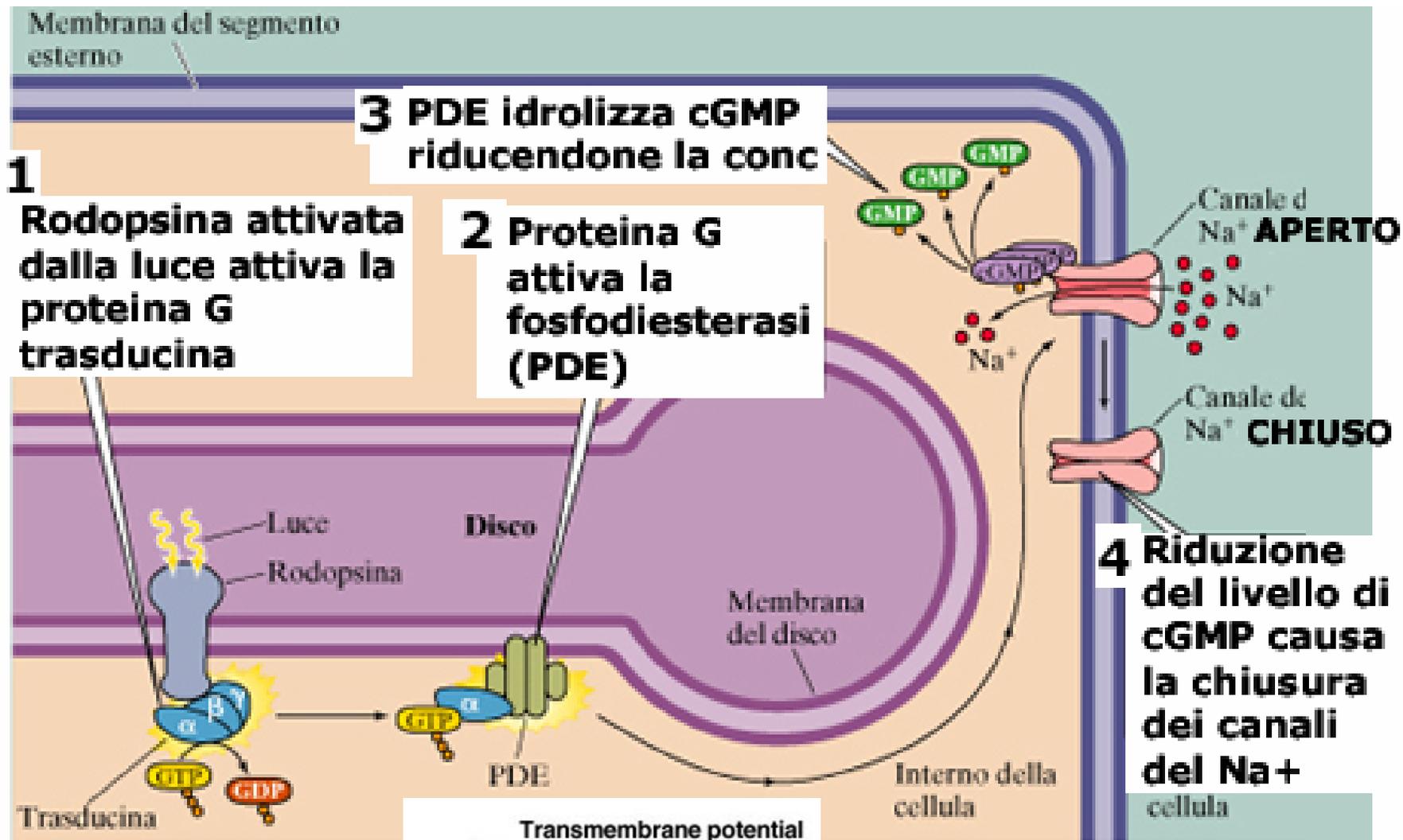
BUIO

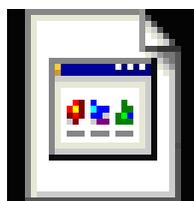
L'esposizione alla luce provoca una diminuzione dei livelli di cGMP e, di conseguenza, la chiusura dei canali, una diminuzione della "corrente al buio" e l'iperpolarizzazione della membrana del fotorecettore

Alla LUCE la corrente al buio è ridotta

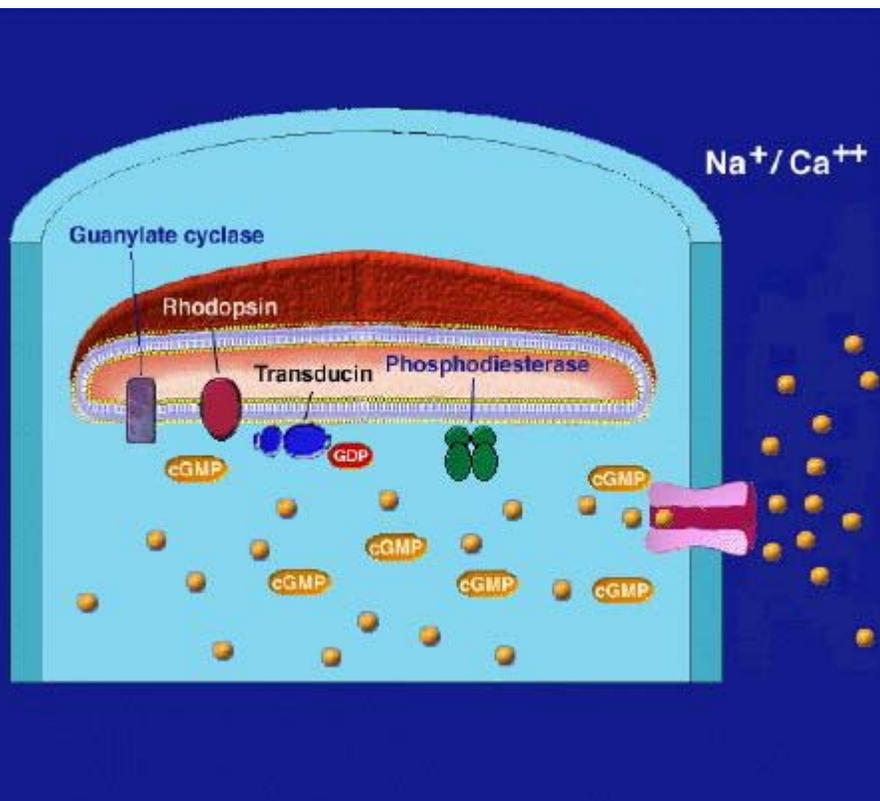
Luce



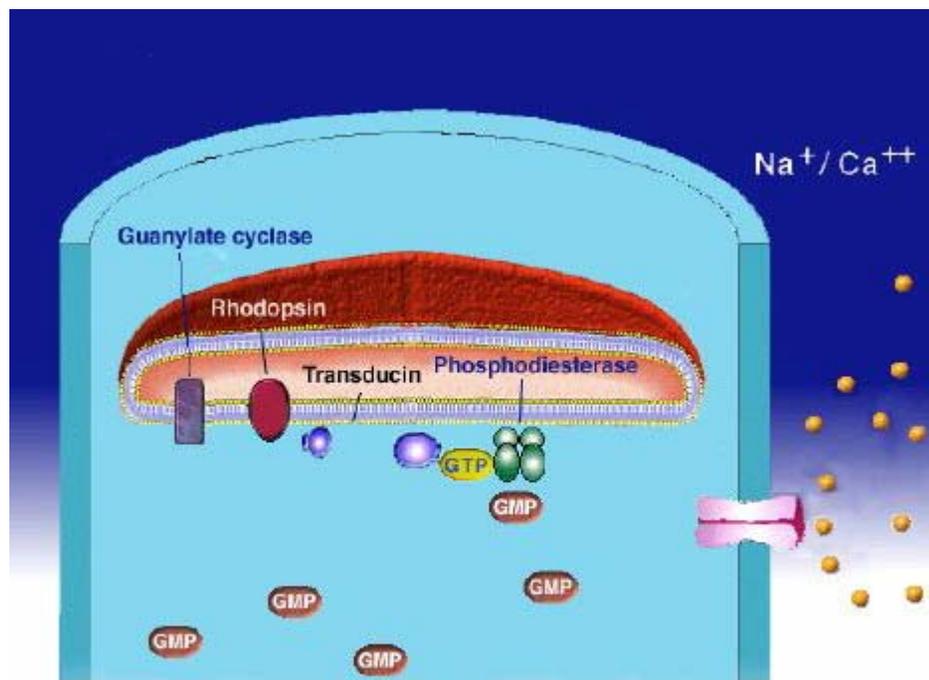




Trasduc.mov



BUIO

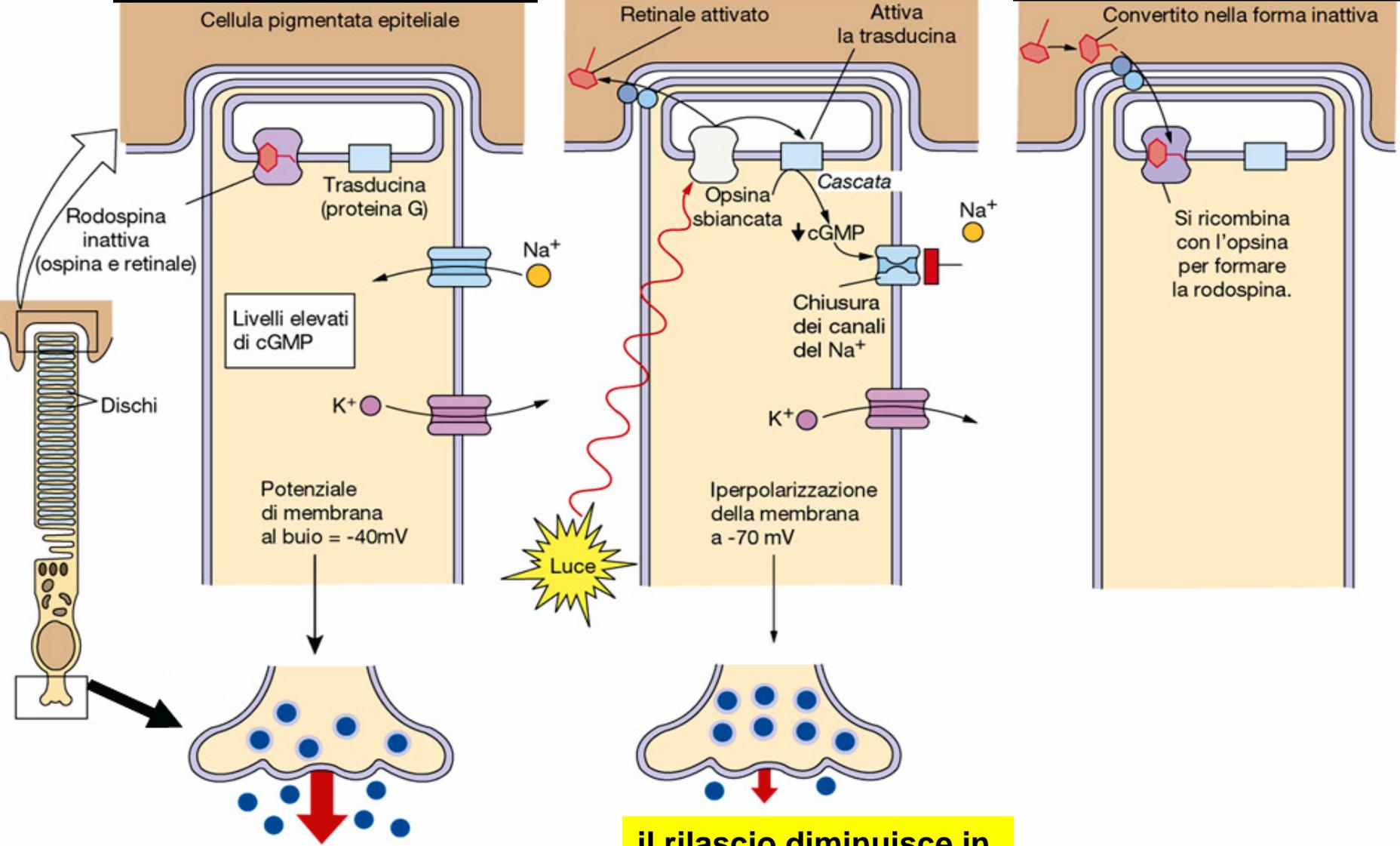


LUCE

al buio i livelli di cGMP sono alti e i canali del Na+ sono aperti

La luce sbianca la rodopsina, si riduce il cGMP, si chiudono i canali del Na+ e si iperpolarizza

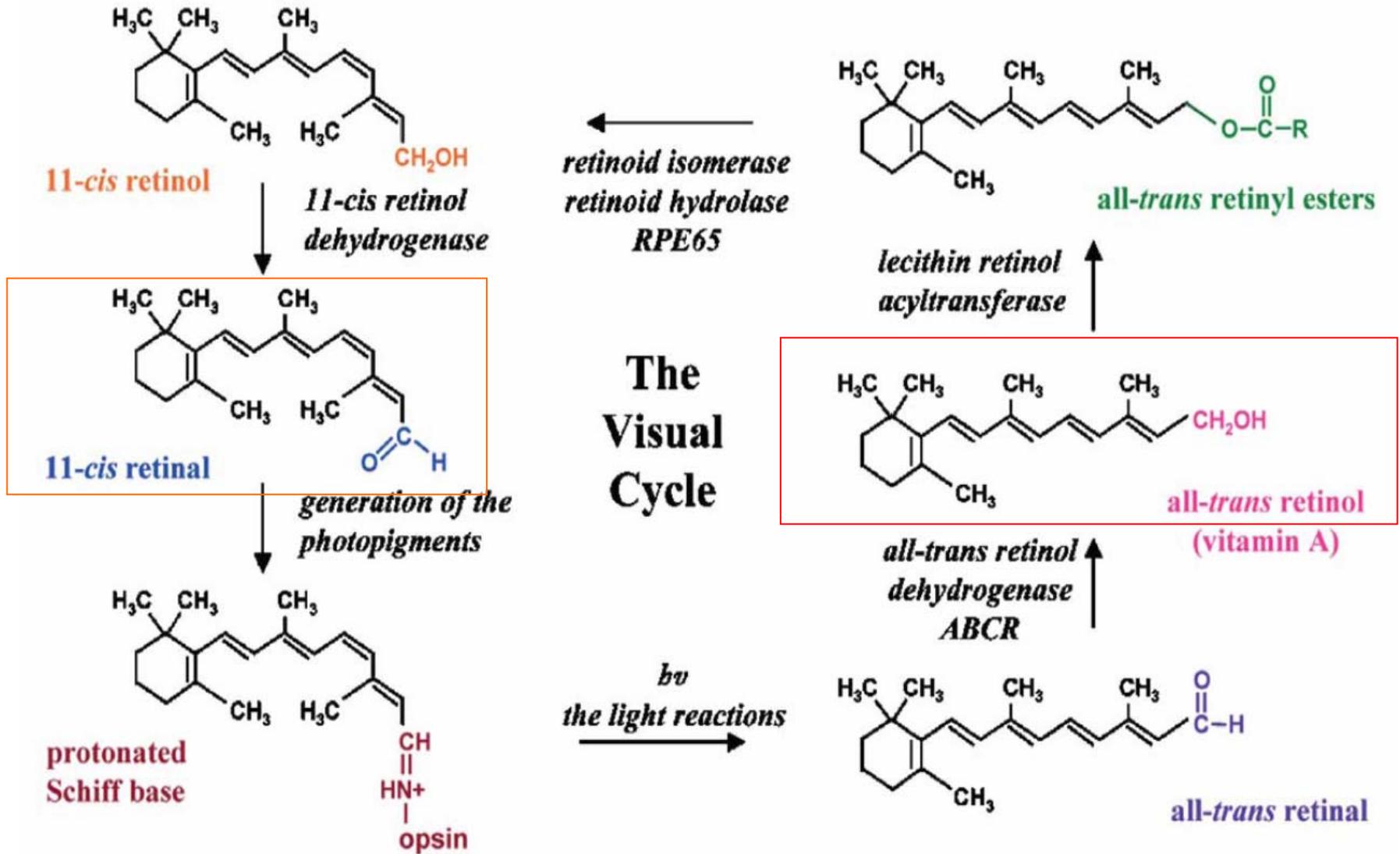
Nella fase di recupero il retinale si ricombina con l'opsina



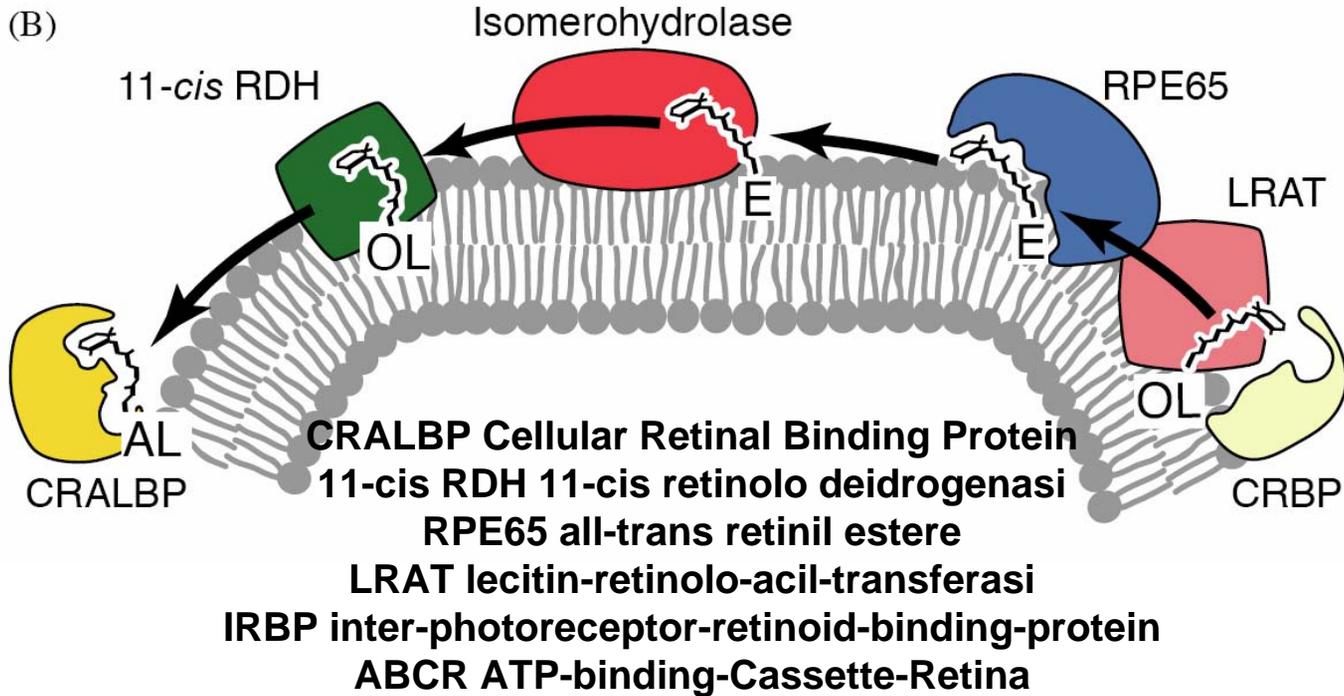
Rilascio tonico di GLU sulle bipolari

il rilascio diminuisce in proporzione alla luce

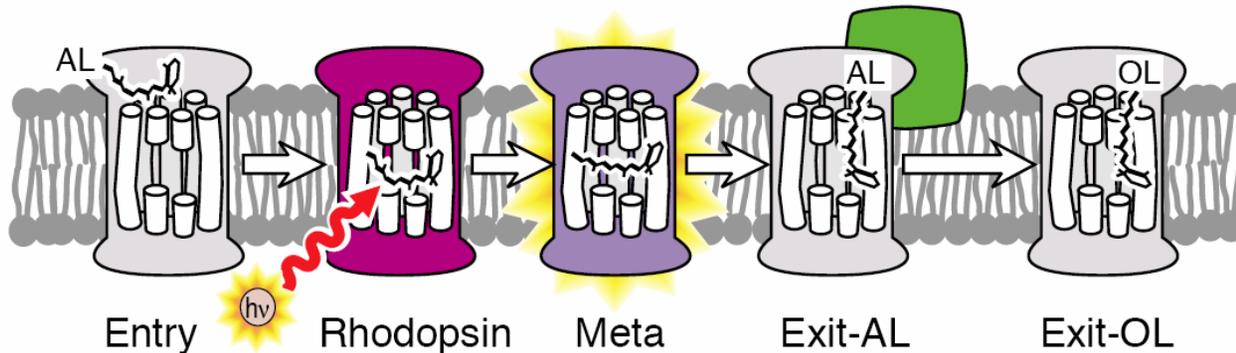
Le reazioni di conversione della vitamina A e dell'11-cis retinale



Enzimi coinvolti nella cellula epiteliale pigmentata



progressione del retinoide attraverso l'opsina nelle membrane dei dischi



La “corrente al buio” è composta da Na^+ (80%), da Ca^{2+} (15%) e da Mg^{2+} (5%) (Yau, 1994). Al buio deve evidentemente esistere un meccanismo capace di rimuovere, come accade per il sodio, anche il Ca^{2+} in eccesso, e questo è fatto dallo scambiatore $\text{Na}^+/\text{K}^+, \text{Ca}^{2+}$ nel segmento esterno.

Sebbene il Ca^{2+} non partecipi direttamente ai processi fototrasduzionali ha però un ruolo di regolazione aumentando la capacità di segnalamento dei bastoncelli velocizzandone il recovery dopo illuminazione e sottoregolandone la sensibilità in condizioni di illuminazione, fenomeno questo importante per l'adattamento alla luce

