



GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

TRABAJO FINAL DE GRADO

**Proteína fotorreceptora melanopsina y su
implicación en la regulación de los ritmos circadianos y
del sueño**

MERCÈ RIVES SOLÁ

**DIRECTOR: PERE GARRIGA SOLE
CO-DIRECTORA: MARGARITA MORILLO
DEPARTAMENTO: ENG. QUÍMICA**

ÍNDICE

1.	Introducción.....	6
2.	Objetivos.....	9
3.	Células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensitivas (<i>Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells</i> (ipRGC)).....	9
3.1	Localización y fisiología.....	9
4.	La melanopsina.....	11
4.1	Estructura de la melanopsina	11
4.2	Función fotorreceptora de la melanopsina.....	12
4.3	La melanopsina en la regulación de los ritmos circadianos.....	14
5.	Implicación de la melanopsina en procesos funcionales y trastornos neurodegenerativos.....	16
5.1	Envejecimiento.....	16
5.2	Enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve.....	17
5.3	Enfermedad de Parkinson (EP).....	21
5.4	Disfunción circadiana en el envejecimiento y trastornos neurodegenerativos.....	24
6.	Conclusiones.....	28
7.	Referencias.....	30

Resumen

Las células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensitivas (ipRGC) representan una tercera clase de fotorreceptores de la retina involucrados en la regulación del reflejo de luz pupilar y el fotoenvejecimiento circadiano, entre otras cosas. La integridad funcional del sistema circadiano y las células de melanopsina es un componente esencial del bienestar y la salud, ya que se ve afectada tanto por el envejecimiento como por la enfermedad.

El presente trabajo ha revisado la evidencia de alteraciones en las células que expresan melanopsina en el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas y su correlación con el desarrollo de trastornos del ritmo circadiano.

En humanos sanos, la densidad promedio de las células positivas para melanopsina se reduce después de los 70 años, y está acompañada de atrofia de la arborización dendrítica dependiente de la edad. Además del envejecimiento, las enfermedades retinianas internas y externas también implican un deterioro progresivo y una pérdida de ipRGC que se correlaciona positivamente con alteraciones progresivas en los ritmos circadianos. Entre otros, el número de ipRGC y la complejidad del plexo se ven afectados en los pacientes con enfermedad de Parkinson; cambios que pueden explicar el sueño y los trastornos del ritmo circadiano en pacientes afectados por esta patología.

El papel clave de las ipRGC en el fotoenvejecimiento circadiano y su pérdida de edad y enfermedad respaldan la importancia del cuidado de los ojos, incluso si se pierde la visión, para preservar las células ganglionares de melanopsina y sus funciones esenciales en el mantenimiento de una calidad de vida adecuada.

Palabras clave: *ipRGC, ritmos circadianos, envejecimiento, melanopsina, enfermedades neurodegenerativas*

Abreviaturas

EA	Enfermedad de Alzheimer
EP	Enfermedad de Parkinson
OCT	Tomografía de coherencia óptica
pERG	Patrón de electroretinograma
PEV	Potenciales evocados visuales
PLR	Reflejo pupilar local
RGC	Células ganglionares retinianas
RLP	Reflejo luz pupilar
RNFL	Capa de fibra nerviosa retiniana
SCN	Núcleo supraquiasmático
SWS	Tiempo dedicado al sueño de onda lenta
TCR	Trastorno de conducta remota
TRH	Tomografía de retina de Heidelberg

1. Introducción

Tradicionalmente, se creía que los fotorreceptores de bastón y cono eran las únicas células fotosensibles en la retina humana. La existencia de un tercer fotorreceptor no tradicional se consideró por primera vez en 1923 cuando Keeler et al. observaron un reflejo de luz pupilar (RLP) funcional en ratones que carecían de la mayoría de sus fotorreceptores de bastón y cono¹. Más tarde, Keeler et al. sospecharon de la presencia de un tercer fotorreceptor en la retina; sin embargo, el RLP detectado podría ser el resultado de la persistencia de un pequeño número de conos y bastones funcionales^{1,2}. (Figura 1 y 2).

Fotorreceptores

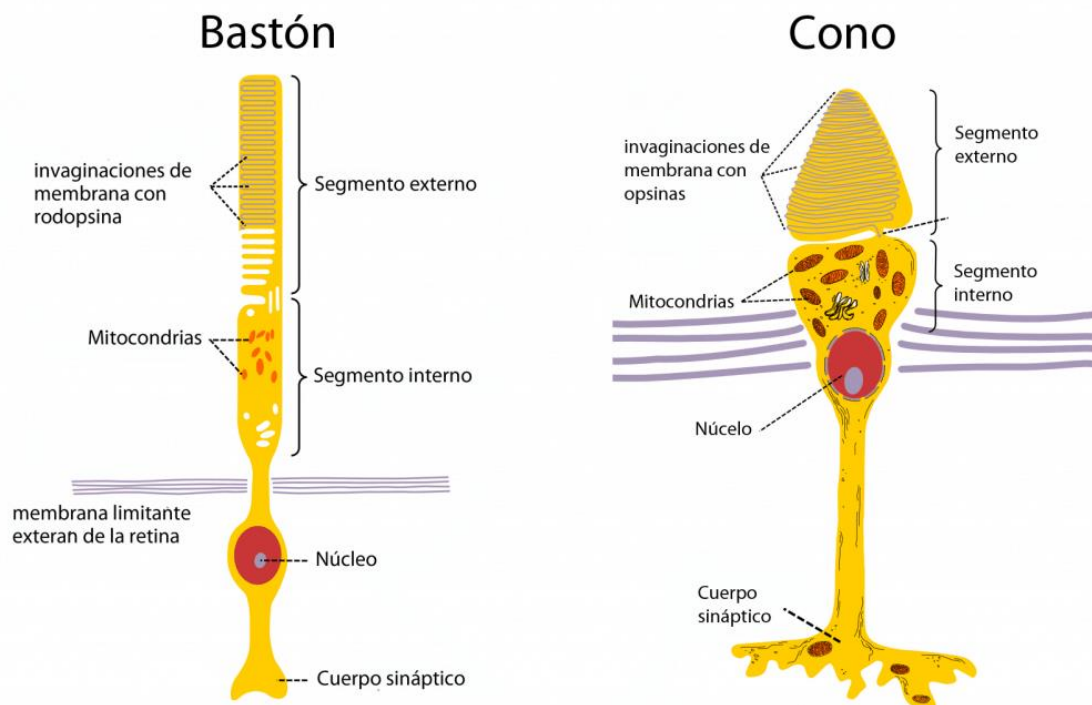


Figura 1. Estructura general de conos y bastones.

En la década de 1990, Russell Foster encontró un RLP robusto, y un ritmo circadiano adaptable a los cambios de los ciclos de luz y la supresión de la liberación de melatonina con estímulos de luz, en ratones desprovistos de fotorreceptores tradicionales obtenidos mediante técnicas de ingeniería genética³. Este hallazgo apoyaba aún más la idea de la existencia de un tercer fotorreceptor, que cuando eran enucleados en ratones transgénicos producían una carencia de RLP así como de la regulación del ritmo circadiano.

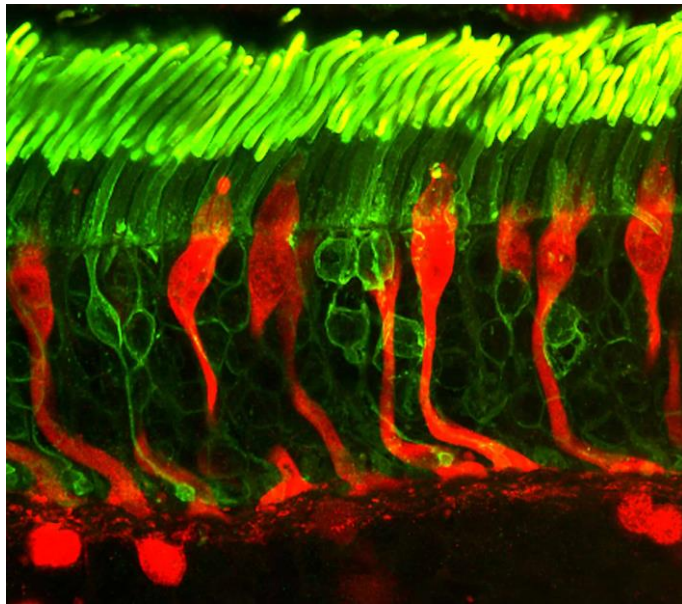


Figura 2. Microscopía de conos y bastones.

Posteriormente, se encontraron respuestas normales de la pupila en sujetos que estaban ciegos debido a una enfermedad retiniana externa extensa, lo que planteó la pregunta de si existía o no otro fotorreceptor en otra parte de la retina⁴. En 1998, Provencio et al. descubrieron un nuevo fotopigmento similar a la opsina, en melanóforos de piel de rana capaz de responder a la luz, que se denominó melanopsina (opn4)⁵. Sorprendentemente, se encontró que esta opsina se encontraba en distintas células ganglionares de la retina interna de ratones y humanos, así como en el iris y los núcleos profundos del cerebro⁶.

Finalmente se demostró la capacidad de estas células ganglionares de la retina para detectar intrínsecamente la luz⁷.

Las células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensitivas (ipRGC por sus siglas en inglés), constituyen una tercera clase de fotorreceptores dentro de la retina, caracterizados por la expresión del fotopigmento melanopsina⁷. Las ipRGC representan solo entre 0.3% y 0.8% del total de células ganglionares de la retina, pero sus roles son diversos y cruciales y van desde la participación en la visión formadora de imágenes hasta

otras funciones que no forman imágenes, como la regulación de los ritmos circadianos o la activación del reflejo pupilar de luz^{1,8}.

En la regulación de los ritmos circadianos, la activación inducida por la luz de las ipRGC viaja a través de proyecciones retinohipotalámicas hasta el marcapasos circadiano principal, ubicado en la región del hipotálamo del SNC^{7, 8}. En una escala más pequeña, las ipRGC se proyectan hacia el núcleo pretectal olivar regulando el RLP⁹. En este sentido, se ha demostrado la existencia de una estrecha relación entre la robustez del sistema circadiano y la RLP⁹. Por otra parte, las ipRGC se proyectan en las regiones del cerebro involucradas en la regulación del estado de ánimo y las funciones cognitivas como el aprendizaje o la memoria^{10,11}.

Curiosamente, no todas las células que contienen melanopsina se proyectan fuera de la retina, y algunos estudios han demostrado la existencia de interneuronas de melanopsina en la retina de mamíferos¹². La integridad funcional del sistema circadiano, que depende parcialmente de la integridad de las células de melanopsina, es un componente esencial para el bienestar y la salud, y su funcionamiento anómalo puede producir trastornos del sueño, problemas cardiovasculares, trastornos emocionales u otros estados patológicos^{13,14}.

Se han informado alteraciones en los ritmos circadianos tanto en el envejecimiento como en la enfermedad, incluidas las patologías oculares y la ceguera¹⁵⁻¹⁷. El envejecimiento se ha asociado con la desincronización y la disminución de la amplitud del ritmo circadiano, lo que produce una reducción gradual de la secreción nocturna de melatonina y variaciones en las fases de sueño / vigilia¹⁵. Estas alteraciones se han relacionado principalmente con una variedad de patologías asociadas con el envejecimiento¹⁵, en lugar de con el envejecimiento en sí mismo. Sin embargo, la alteración del ritmo circadiano descrita en el envejecimiento y la enfermedad podría ser causada, al menos en parte, por cambios morfológicos o funcionales de las células ganglionares de la retina y, más específicamente, de las células ganglionares que contienen melanopsina¹⁷.

La interrupción del reloj circadiano, generalmente acompañada de anomalías en el ciclo sueño-vigilia, puede no solo afectar la calidad de vida de los pacientes, sino

también desencadenar o acelerar la progresión de la patología en enfermedades neurodegenerativas. En las enfermedades de Alzheimer, Parkinson y Huntington, las alteraciones del ritmo circadiano se han considerado tradicionalmente como consecuencias naturales de los trastornos neurodegenerativos^{16, 14}, pero en realidad se ha visto que éstas podrían contribuir y empeorar el proceso neurodegenerativo^{18,19}.

2. Objetivos

El objetivo principal de este estudio es revisar la evidencia de alteraciones de las células de melanopsina asociadas con el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas y correlacionarlas con los trastornos del ritmo circadiano.

Además del objetivo principal se establecen los siguientes objetivos específicos:

- Exponer la fisiología de las ipRGC.
- Describir la estructura y función de la melanopsina y así como su papel en la regulación de los ritmos circadianos.

3. Células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensitivas (*Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC)*)

3.1 Localización y fisiología

Los fotorreceptores de la retina transducen la energía de la luz en señales eléctricas que inician la visión. Los fotorreceptores, conos y bastones clásicos poseen cilios modificados que consisten en pilas de membranas en las que se concentran los fotopigmentos (rodopsina y opsinas de los conos). Los bastones son exquisitamente sensibles y pueden detectar incluso unos pocos fotones. Por lo tanto, se usan para la visión nocturna o escotópica. Los conos son menos sensibles que los bastones y se usan para la visión diurna y el color o fotópica. La visión del color está mediada por fotorreceptores

de los conos que expresan opsinas con picos de sensibilidad a diferentes longitudes de onda (colores) de luz. Los seres humanos tienen tres tipos de cono: conos sensibles a la longitud de onda corta, media y larga (por simplicidad, nos referiremos a estos como conos azules, verdes y rojos, respectivamente). Los conos y bastones transmiten información fótica a través de vías multisinápticas a las células ganglionares de la retina (RGC), que inervan diferentes áreas del cerebro para un procesamiento visual complejo²⁰. Un descubrimiento sorprendente mostró que una subpoblación de RGC es intrínsecamente fotosensible y expresa el fotorreceptor melanosina. Por lo tanto, estas células se denominaron ipRGC^{5,7}

Mientras que los fotorreceptores tradicionales se encuentran en la retina externa, los ipRGC se encuentran en la retina interna y en una capa no completamente dedicada a la fotosensibilidad. Los fotorreceptores tradicionales también superan ampliamente en número a los ipRGC. La retina humana contiene aproximadamente 4.5 millones de fotorreceptores de cono y 90 millones de fotorreceptores de bastón²¹. En comparación, las ipRGC comprenden solo el 0.2% del total de células ganglionares de la retina en el mono macaco, estimando tan solo 3,000 ipRGC por ojo²².

El gen de la melanosina (Opn4) se clonó originalmente de melanosomas dérmicos de *Xenopus laevis* y se demostró que tenía ortólogos en muchas especies de mamíferos, incluidos los humanos⁵. El análisis de secuencia muestra que la melanosina comparte más homología con las opsinas de invertebrados que con las opsinas de vertebrados, lo que sugiere que la melanosina puede usar un mecanismo diferente para la señalización de la luz que el utilizado por los fotorreceptores presentes en los conos y bastones de los vertebrados²³. Los ipRGC no tienen membranas modificadas en las que se pueda concentrar el fotorreceptor: por lo tanto, la proteína melanosina se expresa de manera uniforme en todo el soma, las dendritas y el segmento inicial del axón⁶.

La falta de especialización de membrana hace que los ipRGC sean menos sensibles a la luz que los bastones y conos. Sin embargo, los ipRGC pueden incorporar señales de luz durante un período prolongado de tiempo, lo que resulta en un aumento de su sensibilidad durante la estimulación prolongada de la luz. Los ipRGC son más sensibles a las longitudes de onda de la luz que se encuentran en la región azul del espectro

de luz²⁴. Como células ganglionares, los ipRGC también transmiten información de luz desde bastones y conos además de su ruta intrínseca dependiente de la melanopsina y pueden controlar una variedad de comportamientos mediados por la luz^{1,8}.

Originalmente, se pensaba que los ipRGC comprendían una población uniforme, sin embargo, los descubrimientos recientes revelaron que los ipRGC son muy diversos y comprenden al menos cinco subtipos distintos (M1-M5) en roedores basados en análisis morfológicos y electrofisiológicos²⁵. La población originalmente identificada ahora se conoce como ipRGC M1 y se proyecta predominantemente a regiones cerebrales involucradas en funciones visuales que no forman imágenes, mientras que los ipRGC no M1 muestran proyecciones generalizadas en áreas del cerebro importantes para la formación de imágenes²⁶. Los subtipos de ipRGC expresan niveles variables de la proteína melanopsina y tienen diferentes patrones de estratificación de dendrita en la capa plexiforme interna²⁶⁻²⁸, lo que indica que cada subtipo podría desempeñar un papel particular en la detección de luz intrínseca y en el mecanismo de señalización de la información del cono al cerebro.

4. La melanopsina

4.1 Estructura de la melanopsina

La melanopsina es una proteína integral de membrana de 534 aminoácidos; tiene 7 dominios transmembrana; el extremo amino terminal se encuentra en la región extracelular, mientras que el carboxilo terminal se encuentra en el citoplasma; tiene 3 bucles extracelulares, los últimos 2 contienen algunos residuos de cisteína, cuya función es estabilizar la estructura terciaria por medio de enlaces disulfuro. También muestra 3 bucles en la región citoplasmática donde diferentes aminoácidos son candidatos como sitios de fosforilación intracelular, y en el séptimo dominio transmembrana, la interacción ocurre con el cromóforo, el retinaldehído²⁹.

Aunque la melanopsina se identificó en vertebrados, su secuencia de aminoácidos y características estructurales son más parecidas a las opsinas de invertebrados. La fototransducción visual es el mecanismo mediante el cual los fotones son absorbidos por

los conos y bastones de la retina para transducirlos a un impulso nervioso que el cerebro puede interpretar³⁰.

La melanopsina se expresa en todos los vertebrados que se han estudiado³¹, tanto en la retina como fuera del ojo, como en el caso de la rana *X. laevis*, donde se encuentra en melanóforos dérmicos y en la retina; en mamíferos, se ha encontrado solo en el tejido retiniano³², lo que sin duda está determinado por el hecho de que los mamíferos son los únicos vertebrados con fotorrecepción restringida a los globos oculares.

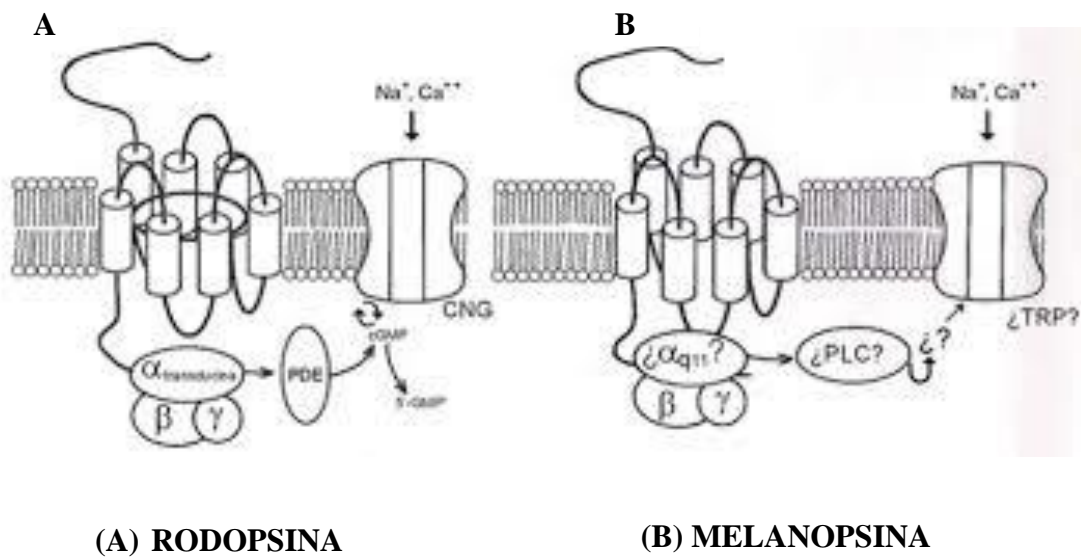


Figura 3. Las opsinas son receptores acoplados a proteínas G. (A) La rodopsina activa a la α -transducina, el efector secundario es la fosfodiesterasa de GMP cíclico y el efector final es el canal catiónico activado por nucleótidos cíclicos (CNG). (B) la melanopsina activa a una proteína del tipo Gq que es una isoforma de la fosfolipasa C (PLC), siendo el efector final un canal del tipo TRP (canales de potencial transitorio).

Fuente: Jorge Alberto Pérez-León y R. Lane Brown⁹⁶

4.2 Función fotorreceptora de la melanopsina.

El impulso de los conos y bastones se transmite a través de señales dinámicas a las células ganglionares de la retina cuyos axones forman el nervio óptico que se proyecta hacia el encéfalo para la formación de imágenes. Por el contrario, los ipRGC que expresan melanopsina proyectan sus axones hacia el núcleo supraquiasmático para regular la sincronización del ritmo circadiano en respuesta a los niveles de luz ambiental

(fotosincronización)³³. Los ipRGC están involucrados en funciones que están relacionadas con procesos dependientes de la luminosidad ambiental pero que no conducen a la imagen, por lo que se han denominado respuestas retinianas sin formación de imagen.

Otras funciones relacionadas con las respuestas fotónicas incluyen la supresión de melatonina³⁴, la RLP³⁵ y la modulación del sueño³⁶.

Las células ganglionares que contienen melanopsina³⁷, como conos y bastones, exhiben adaptación clara y oscura; ajustan su sensibilidad de acuerdo con la historia reciente de exposición a la luz³⁸. Sin embargo, mientras que los conos y bastones son responsables de la recepción de imágenes, patrones, movimiento y color, la melanopsina contribuye a diversas respuestas reflexivas del cerebro y el cuerpo a la presencia de luz³⁹.

Los fotorreceptores de melanopsina son sensibles a un rango de longitudes de onda y alcanzan un máximo de absorción de luz para longitudes de onda de luz azul alrededor de 480 nm⁴⁰. Otras longitudes de onda de luz activan el sistema de señalización de melanopsina con eficiencia decreciente a medida que se alejan de los 480 nm óptimos. Por ejemplo, las longitudes de onda más cortas alrededor de 445 nm (más cercanas al violeta en el espectro visible) son la mitad de efectivas para la estimulación del fotorreceptor de melanopsina que la luz a 480 nm⁴⁰.

La melanopsina en el iris de algunos mamíferos, principalmente nocturnos, cierra el iris cuando está expuesto a la luz. Este reflejo de pupila local (PLR) está ausente de los primates, a pesar de que sus iris expresan melanopsina⁴¹.

Cuando la luz de una frecuencia adecuada entra en ojo, activa la melanopsina contenida en las ipRGC, lo que desencadena un potencial de acción. Estas señales eléctricas neuronales viajan a través de los axones neuronales a objetivos cerebrales específicos, como el centro de control pupilar llamado núcleo olivar pretectal del mesencéfalo. En consecuencia, la estimulación de la melanopsina en las ipRGC media las respuestas conductuales y fisiológicas a la luz, como la constricción de las pupilas y la inhibición de la liberación de melatonina de la glándula pineal⁴²⁻⁴⁴.

4.3 La melanopsina en la regulación de los ritmos circadianos.

El impacto más potente de la luz sobre la fisiología y el estado conductual proviene de su regulación de los ritmos circadianos. La fisiología y el comportamiento de los mamíferos se coordinan mediante relojes circadianos en ritmos sincronizados con los ciclos de luz y oscuridad de un día solar de 24 horas. Estos relojes moleculares, basados en bucles de retroalimentación de transcripción / traducción entrelazados, están presentes en la mayoría de las células de todo el cuerpo y se sincronizan mediante un reloj "maestro" ubicado en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo^{3,4}.

Este reloj endógeno es autosuficiente incluso en ausencia de estímulos externos, pero puede arrastrarse a ciclos de luz-oscuridad en un proceso llamado fotoenvejecimiento. Un cambio en el período del ciclo claro-oscuro (por ejemplo, exposición a la luz durante la noche) dará como resultado un cambio de fase de los ritmos circadianos. Muchas funciones conductuales y fisiológicas como la regulación del sueño-vigilia, la secreción hormonal y la termoregulación varían a lo largo del ciclo claro-oscuro coordinado con el ritmo circadiano, por lo tanto, no es sorprendente que una interrupción del ritmo circadiano pueda afectar la fisiología y el comportamiento^{3,4,10}.

Aunque los relojes circadianos son autosuficientes, un cambio en el tiempo de exposición a la luz dará como resultado un cambio de fase de los ritmos circadianos. Por lo tanto, la luz puede afectar indirectamente la fisiología general y el estado conductual. Sin embargo, la luz también puede tener efectos más directos sobre la fisiología y el comportamiento¹⁰. Estudios recientes han mostrado que la luz podría desencadenar cambios fisiológicos (el corazón y la termoregulación) en el intervalo de tiempo de un minuto de exposición⁴⁵, mientras que las imágenes funcionales revelaron los efectos de la luz en las estructuras límbicas (amígdala e hipocampo) en cuestión de segundos después de la exposición⁴⁶.

La melanopsina desempeña un papel importante en el fotoenvejecimiento de ritmos circadianos en mamíferos⁴⁷. En los mamíferos, el ojo es el principal órgano fotosensible para la transmisión de señales de luz al cerebro. Sin embargo, los humanos ciegos aún pueden ser sensibles al ciclo ambiental claro-oscuro, a pesar de no tener una percepción consciente de la luz. En un estudio se expuso a los sujetos a luz brillante

durante un período de tiempo prolongado y se midió sus concentraciones de melatonina. La melatonina no solo se suprimió en humanos con discapacidad visual, sino también en participantes ciegos, lo que sugiere que la vía fótica utilizada por el sistema circadiano está funcionalmente intacta a pesar de la ceguera.⁴⁸

Recientemente, se ha dado mucho énfasis al papel que la melanopsina puede tener en la modulación específica del sueño. De hecho, Lupi et al.⁴⁹, demostraron que la ablación genética del gen de melanopsina (Opn4) en ratones elimina la inducción del sueño mediada por la luz. Esta inducción del sueño está relacionada con la activación de las neuronas promotoras del sueño en el núcleo preóptico ventrolateral y el colículo superior, lo que sugiere que la fotorrecepción basada en melanopsina es necesaria y suficiente para la regulación del sueño⁴⁹.

El sueño en estos ratones se induce después de 7-10 minutos de exposición a la luz con alta irradiación (más de $50 \mu\text{W} / \text{cm}^2$) y esta respuesta parece independiente de la contribución de los conos / bastones⁴⁹. Del mismo modo, Altimus et al.⁵⁰, demostraron que la melanopsina desempeña un papel directo en la modificación inducida por la luz de la actividad en ratones. Estos autores, a diferencia de Lupi et al.⁴⁹, demostraron que tanto la fotorrecepción basada en las células fotorreceptoras como la melanopsina son necesarias para ejercer el efecto completo de la luz sobre la regulación del sueño. Otros estudios apoyan un papel relevante de los ipRGC en la regulación de la homeostasis del sueño⁵⁰.

En este estudio, los autores también mostraron que la hora del día modulaba los efectos agudos de la luz y la oscuridad solo en los ratones Opn4 - / -, lo que sugiere que la melanopsina compensa los cambios circadianos en la sensibilidad de las células fotorreceptoras. Además, la melanopsina influye en las modificaciones de la actividad EEG inducidas por pulsos oscuros, que tienen un efecto de alerta⁵¹.

El papel preponderante de los ipRGC en la regulación del estado de alerta / sueño también está respaldado por estudios recientes de resonancia magnética funcional del cerebro que muestran que la exposición breve a la luz azul induce una activación significativa de las estructuras del tronco encefálico relacionadas con la regulación de la excitación y este efecto puede depender también del fenotipo circadiano^{52,53}.

En general, estos hallazgos apuntan a un papel importante de la melanopsina en la modulación, independientemente, no solo del aspecto circadiano del sueño sino también de su componente homeostático. Esta hipótesis está bien respaldada por la observación de que diferentes fenotipos circadianos se caracterizan por una regulación homeostática distinguible⁵⁴.

Dado que la melanopsina desempeña un papel fundamental en el fotoenvejecimiento de los ritmos circadianos y que los cronotipos ('mañana' / 'tarde') reflejan la capacidad de ser trasladados al ciclo claro-oscuro, es razonable que las variantes polimórficas genéticas en el gen de la melanopsina puedan jugar un papel relevante en la modulación del fenotipo circadiano.

5. Implicación de la melanopsina en procesos funcionales y trastornos neurodegenerativos.

5.1 Envejecimiento.

Se ha documentado una pérdida de axones en el nervio óptico relacionada con la edad en diferentes estudios histopatológicos^{55, 56}. En particular, Johnson et al., encontraron una pérdida similar de axones en las porciones central y periférica del nervio óptico sin ningún patrón regional específico⁵⁶. Del mismo modo, estudios más recientes de tomografía de coherencia óptica (OCT) demostraron una reducción relacionada con la edad del grosor de la capa de fibra nerviosa retiniana (RNFL)⁵⁷.

La disminución del grosor promedio de la RNFL documentada por estos dos estudios fue de 2.0 y 2.4 μm respectivamente por cada década de edad. Esta disminución, según Feuer et al.⁵⁷, no es un fenómeno homogéneo, ya que muestra una pérdida preferencial de RNFL en el cuadrante superior⁵⁷. El cuadrante temporal e inferior mostró una disminución significativamente menos evidente de las fibras nerviosas de la retina en comparación con la superior. En general, estos estudios documentan una pérdida de axones en el nervio óptico relacionada con la edad que se vuelve relevante para agotar los nervios ópticos a partir de los 60 años⁵⁷.

5.2 Enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve.

Las quejas visuales complejas, incluidas las dificultades para leer o encontrar objetos, la percepción de profundidad, la estructura de percepción del movimiento, el reconocimiento del color y las anomalías de sensibilidad al contraste son frecuentes en la enfermedad de Alzheimer (EA) y pueden afectar hasta el 40% de los pacientes con EA⁵⁸⁻⁶⁰.

La presencia de estas anomalías puede estar relacionada con una degeneración primaria de la retina, así como con un daño de las áreas asociativas visuales y visuales primarias. Desde 1986, Hinton et al., demostraron que en las retinas *postmortem* y los nervios ópticos de los pacientes con EA hubo pérdida de RGC y axones relacionados, que implican preferentemente el sistema de células M, en ausencia aparente de angiopatía neurofibrilar o amiloide^{61, 62} (figura 4).

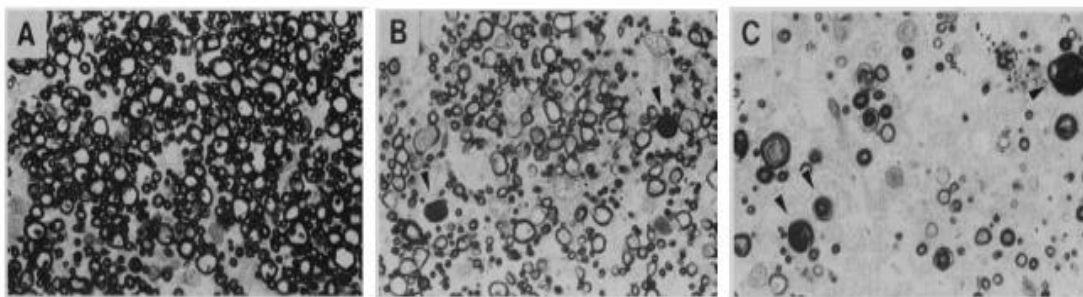


Figura 4: Se muestran los nervios ópticos teñidos por el método de p-fenilendiamina. A. Control normal. B y C. Nervios ópticos de Alzheimer que muestran un perfil degenerado moderado (B) y severo (C) con empaquetamiento axonal más suelto en el caso grave⁶¹

Después de este informe, otros autores mostraron la presencia de degeneración del nervio óptico, siendo más evidente en los cuadrantes superior e inferior y en la región foveal en los tejidos *postmortem* de pacientes con EA^{63, 64}. La deposición de amiloide relacionada con la edad en RGCs y RNFL se ha documentado en la retina humana de individuos normales, así como también se ha informado evidencia de deposición retiniana A en modelos transgénicos de ratón con EA^{65, 66}.

Además, se ha detectado la presencia de placas amiloides en retinas *postmortem* de pacientes con EA teñidos con curcumina y anticuerpos anti-A 42⁶⁷ (Figura 5).

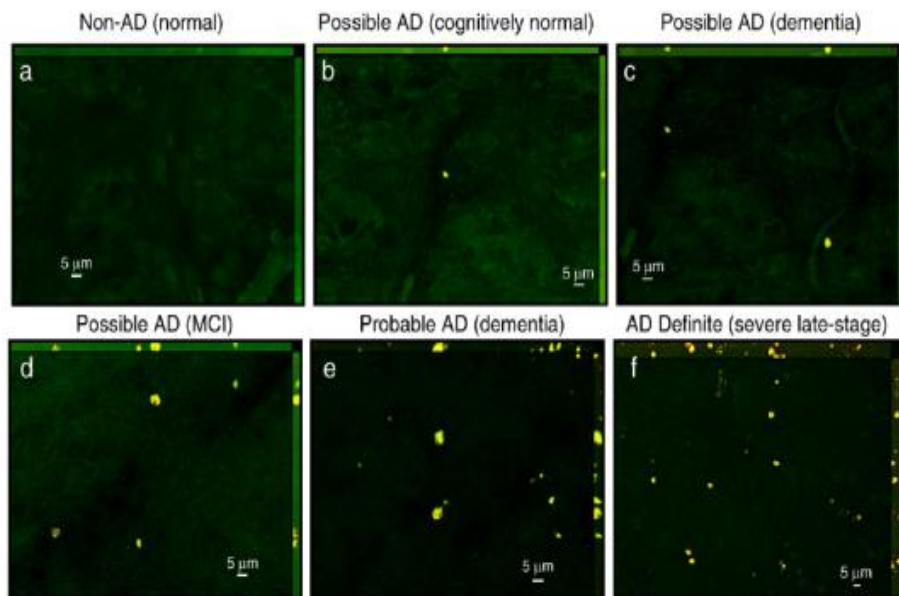


Figura 5: a-f Retinas completas de individuos normales y posibles pacientes con EA teñidos con curcumina anti-A 42 anticuerpos. Las placas amiloides no pueden detectarse en individuos cognitivamente normales (a); en pacientes con EA grave, se observan abundantes placas amiloides (f)⁶⁷

Más recientemente, el uso de la OCT permitió mediciones objetivas de RNFL y grosor macular para la evaluación cuantitativa *in vivo* de la pérdida de RGC en EA. Parisi et al., en 2001 encontraron anomalías significativas y generalizadas en el adelgazamiento de RNFL y el patrón de electroretinograma (pERG) en 17 pacientes con EA⁶⁸.

Del mismo modo, en 2006, Iseri et al., demostraron un adelgazamiento significativo de la RNFL promedio, así como el adelgazamiento de los cuadrantes superior, inferior y nasal, y la reducción del volumen macular en 14 pacientes con EA en comparación con los controles, en ausencia de potenciales evocados visuales (PEV). La reducción del volumen macular se correlacionó con el grado de deterioro cognitivo⁶⁹. También se informó un adelgazamiento significativo de la RNFL en el cuadrante superior y una disminución del flujo de la vena sanguínea en la retina en los primeros casos de EA⁷⁰.

Por otro lado, los pacientes con deterioro cognitivo leve amnésico también pueden presentar una reducción difusa de la RNFL, según lo evaluado por OCT, lo que sugiere

que la afectación del nervio óptico puede ser un signo preclínico de neurodegeneración en la EA⁷¹. Más recientemente, Lu et al., demostraron adelgazamiento RNFL de los cuadrantes superior e inferior en 22 pacientes con EA⁷².

La participación preferencial de los cuadrantes superior e inferior es compatible con las observaciones seminales de una participación preferencial del sistema magnocelular en la EA⁶¹, así como con los hallazgos electrofisiológicos. Este patrón se asemeja a la neuropatía óptica que ocurre en el glaucoma⁷³, que curiosamente tiene una mayor incidencia en pacientes con EA. Sin embargo, el establecimiento de un vínculo entre la EA y el glaucoma sigue siendo difícil y los mecanismos patogénicos que unen las dos condiciones son controvertidos⁷⁴.

Además, Kesler et al., demostraron una disminución significativa del grosor de RNFL en pacientes con EA (n = 30) en comparación con los controles, más evidente en el cuadrante superior⁷¹. Un resumen de los hallazgos de la OCT en la EA se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Resumen de resultados

Autor/es	OCT	Nº de pacientes	ECMN	Resultados
Parisi et al. ⁶⁸	Estrato	17 EA 14 Controles	11-19	- avg RNFL - Espesor RNFL en los 4 cuadrantes. sin correlación con ECMN
Iseri et al. ⁶⁹	Estrato	14 EA 15 Controles	18.5± 6.3	- grosor promedio de RNFL - RNFL sup / inf / nasal - volumen macular
Berisha et al. ⁷⁰	Estrato	9 EA 8 Controles	24 (17-30)	grosor sup RNFL flujo de sangre anormal
Lu et al., ⁷²	Estrato	22 EA 22 Controles	No especificado	- avg RNFL - Espesor RNFL sup / inf
Kesler et al. ⁷¹	Estrato	24 DCL 30 EA 24 Controles	28.1.5± (DCL) 23.6±4.3 (EA)	2.1 - promedio RNFL en DCL y EA - inf RNFL en DCL y EA - sup RNFL en EA

Fuente: elaboración propia. ECMN: Error cuadrado medio normalizado; DCL: Defecto cognitivo leve.

La presencia de degeneración retiniana en la EA también está respaldada por investigaciones electrofisiológicas con registros de PEV y pERG, que demostraron una función anormal de los RGC, incluso en las primeras etapas de la enfermedad^{75, 76}.

Curiosamente, Krasodomska et al.⁷⁶, estudiaron a 30 pacientes con EA temprana, con un puntaje Mini-Mental de más de 21 y una duración de la enfermedad de menos de 2 años, informando un mayor tiempo implícito de la onda P50 y una reducción de la amplitud de la P50 y N-95 examen pERG, un aumento de la latencia de la onda P-100, así como un tiempo retinocortical prolongado (ECA) significativo en los patrones de PEV⁷⁶. Sartucci et al.⁷⁵, utilizando estímulos visuales cromáticos y de luminancia en 15 casos tempranos de EA, describieron respuestas anormales de pERG y PEV con tiempo de conducción retinocortical normal, compatible con una disfunción primaria de la vía magnocelular en EA⁷⁵.

Estos hallazgos concuerdan con la observación de una deposición prevalente de placas amiloides y ovillos neurofibrilares en la corteza visual primaria prevalente en la vía M descrita en EA y sugieren que la afectación de la retina puede ser secundaria a una degeneración axonal retrógrada⁷⁶.

En general, estos hallazgos sugieren una participación temprana del sistema visual en el proceso neurodegenerativo en la EA, lo que provocaría la detección de anomalías retinianas en pacientes con deterioro cognitivo leve. Todavía es controvertido si los problemas visuales son consecuencia de una afectación primaria de la retina o cortical en la EA, o ambos. En apoyo de una contribución retiniana primaria a la aparición de disfunción visual en la EA, existe evidencia de que la respuesta de supresión de melatonina inducida por la luz en pacientes con EA está alterada. La presencia de una participación específica del sistema mRGCs también puede explicar la aparición del reflejo de luz pupilar alterado descrito en EA, incluso si esto también se ha relacionado con la presencia de un defecto colinérgico⁷⁷.

5.3 Enfermedad de Parkinson (EP).

En los últimos años, las evidencias emergentes apoyan la participación de la retina y el nervio óptico en el proceso neurodegenerativo en la EP, explicando la aparición de disfunción visual en la EP⁷⁸.

Los problemas visuales, incluidas las anormalidades en la visión del color, pueden ocurrir temprano y algunos autores los proponen como marcadores, entre los signos no motores, con el mejor poder discriminatorio para distinguir la EP temprana de los controles⁷⁹. La disfunción visual y, en particular, las anormalidades de la visión del color parecen ocurrir con mayor probabilidad en pacientes con EP con trastorno de conducta remota (TCR) que sin TCR, y también se describen en TCR idiopática⁸⁰, lo que sugiere que los diferentes subgrupos de pacientes con EP pueden tener diferentes expresiones clínicas de síntomas no motores. En particular, pueden tener deterioro de la agudeza, de la sensibilidad de contraste anormal, y del color. Las anomalías de la visión y la degeneración del nervio óptico se han descrito en la EP⁸¹. Además, el procesamiento visual deteriorado se ha relacionado con alucinaciones visuales en la EP⁸¹.

Los defectos en la sensibilidad al contraste descritos en la EP se han relacionado con la deficiencia de dopamina en la retina, como lo demuestra el hecho de que muchas de estas alteraciones mejoran después de la administración de L-DOPA. La dopamina retiniana regula, a través de los receptores D1, el proceso de adaptación a la luz que influye en la organización circundante de los RGC. Además, la administración de L-DOPA puede revertir los potenciales evocados visuales y las anormalidades del patrón ERG descritas en la EP⁸².

Además, la observación del contenido reducido de dopamina en la retina de los pacientes con EP puede resultar relevante en la aparición de disfunción de los ritmos circadianos en la EP. De hecho, las células amacrinas dopaminérgicas interactúan bidireccionalmente e influyen en la actividad de los ipRGC⁸³ y la dopamina misma puede influir en la expresión del gen de melanopsina. Una función dopaminérgica retiniana anormal puede afectar la integridad del sistema ipRGC, posiblemente contribuyendo a la aparición de problemas circadianos y del sueño en pacientes con EP.

Por otro lado, un estudio realizado por Lax y colaboradores mostró una reducción en el número de mRGC en pacientes con EP, acompañado de una reducción drástica en la complejidad de su plexo y de alteraciones morfológicas como la disminución del área de Sholl, menos ramificaciones y puntos terminales⁹⁸ (Figura 6).

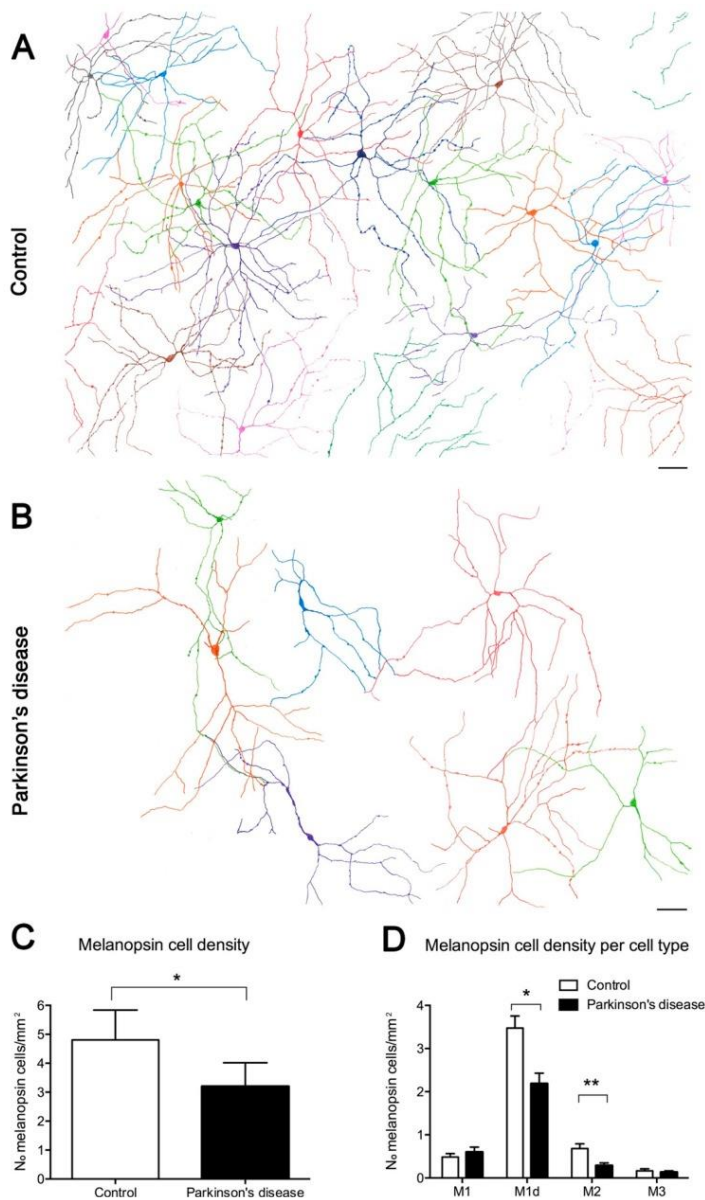


Figura 6: Comparación de mRGC en pacientes con y sin EP. A) Retina de un paciente sin EP. B) Retina en EP. C) Número total de mRGC. D) Comparación de distintos tipos de mRGC.⁹⁸

En las mediciones OCT y tomografía de retina de Heidelberg (TRH) en pacientes con EP, se ha documentado una reducción del grosor de la capa de RNFL en las etapas temprana y más avanzada de la enfermedad.

Yavas et al.⁸⁵, encontraron una reducción significativa del grosor de la RNFL por la TRH en los sectores nasal, superonasal, inferonasal e inferotemporal en 44 pacientes con EP y, curiosamente, el grosor de la RNFL fue mayor para los pacientes tratados con L-DOPA que, con los agonistas de dopamina, lo que sugiere un posible papel neuroprotector de la terapia con L-DOPA.

De manera similar, Altintas et al.⁸⁶, describieron una reducción generalizada de la RNFL por OCT, que alcanzó

importancia para los cuadrantes superior y nasal, y del grosor macular y el volumen macular en 17 pacientes con EP en comparación con los controles.

A su vez, Hajee et al.⁸⁷, utilizando un aparato de OCT de dominio de Fourier, encontraron un adelgazamiento significativo del grosor superior e inferior de la capa retiniana interna macular en 24 pacientes con EP temprana (48% de la muestra eran pacientes sin tratamiento previo con medicamentos). Estas medidas no se correlacionaron con la gravedad de la enfermedad. Moschos et al.⁸⁸, al combinar las técnicas de OCT y ERG multifocal, demostraron un adelgazamiento significativo del grosor de la RNFL en el cuadrante inferotemporal y una actividad eléctrica foveal reducida en 16 pacientes con EP sin discapacidad visual.

Cubo et al.⁸⁹, encontraron un grosor foveal reducido en 9 pacientes con EP y 9 pacientes con temblor esencial en comparación con los controles. Por otra parte, Archibald et al.⁹⁰, no encontraron diferencias en cuanto al grosor de la retina entre 34 pacientes con EP y 17 controles

Tabla 2: Resumen de resultados.

Autor/es	PCT	Nº de pacientes	Resultados
Yavas et al. ⁸⁵	Heidelberg De retina Tomógrafo	44 EP 10 Controles	- espesor medio, nasal, supero e infero-nasal e infero-temporal (los pacientes en L-dopa tienen un RNFL más grueso)
Altintas et al. ⁸⁶	Estrato	17 EP 11 Controles	- avg, sup and nasal RNFL thickness and macular thickness and volume (correlation foveal thickness/UPDRS)
Hajee et al. ⁸⁷	Dominio espectral OCT	24 EP 20 Controles	- grosor sup e inf de IRL macular No hay correlación con la gravedad de la enfermedad
Moschos et al. ⁸⁸	Estrato	16 EP 22 Controles	- inf y temp RNFL espesor
Cubo et al. ⁸⁹	Estrato	17 EP 9 Controles	- grosor foveal en PD y ET vs controles (más delgado en el ojo controlateral ete del lado más afectado)
Archibal et al. ⁹⁰	Estrato	34 EP 17 Controles	- sin diferencias en grosor RNFL, grosor macular y volumen

Fuente: Elaboración propia. EP: Enfermedad de Parkinson.

La observación de que la disfunción del nervio óptico puede ocurrir temprano en el curso de la enfermedad es extremadamente importante, ya que representa un posible biomarcador temprano confiable para el diagnóstico de EP. Curiosamente, un modelo de ratón con una delección espontánea en la ubiquitina C-terminal hidrolasa L1 (UCH-L1; Park5), cuyas variantes están asociadas con AD y EP esporádicas, se caracteriza por un ritmo alterado de sueño / vigilia asociado con una reducción significativa de ipRGC en la retina⁹¹.

Ésta es una evidencia directa que conecta la patología retiniana con las anormalidades de los ritmos circadianos y el sueño en un modelo de neurodegeneración. En general, la participación de la retina, y en particular de los RGC en el proceso neurodegenerativo en la EP, puede permitir hipotetizar una contribución del sistema ipRGC en la aparición de disfunciones del sueño y de los ritmos circadianos en pacientes humanos con EP.

5.4 Disfunción circadiana en el envejecimiento y trastornos neurodegenerativos.

Las quejas relacionadas con el sueño son comunes en el envejecimiento y afectan hasta al 70% de la población de edad avanzada. Incluyen dificultades para iniciar y mantener el sueño con despertares tempranos, y cambios en la calidad y el momento del sueño⁹². La eficiencia del sueño disminuye progresivamente con la edad, de aproximadamente el 86% a los 37-54 años y el 79% a los 70 años.

Los cambios en la arquitectura del sueño están representados por una reducción del tiempo de sueño total y, en particular, del tiempo dedicado al sueño de onda lenta (SWS), pero también a una menor densidad del sueño REM y la pérdida del aumento del sueño REM durante la noche. Los cambios en el momento del sueño incluyen despertarse temprano y acostarse temprano. Estas modificaciones resultan tanto de una regulación homeostática anormal del sueño como de una regulación disfuncional de los ritmos circadianos^{11, 93}.

En particular, los cambios homeostáticos descritos con el envejecimiento comprenden una reducción de la actividad de la onda lenta y la frecuencia del huso durante el sueño y un aumento de los despertares durante la noche. Los cambios relacionados con el ritmo circadiano informados con el envejecimiento están representados por una reducción de la amplitud de la temperatura corporal central en un 20-30%, los ritmos circadianos de melatonina y cortisol, la hora de acostarse y despertarse más temprano y el avance de fase de los ritmos circadianos^{11,15,93}. Se ha interpretado que este último no es secundario a un cambio del período circadiano endógeno *per se* sino a un proceso circadiano debilitado¹⁵. La aparición de sueño y anormalidades circadianas en los ancianos puede determinarse por⁹³:

- a) cambios degenerativos que afectan la retina y el nervio óptico;
- b) transmisión reducida de luz, particularmente luz azul, a través de una lente ocular amarillenta;
- c) aumento de la incidencia de degeneración macular y glaucoma.

Además, tanto en modelos animales como en humanos existe evidencia de que se pierde ipRGC con el envejecimiento (magnitud de 40% de reducción).^{49,97,98} Curiosamente, Lupi y sus coautores⁴⁹ demostraron que el envejecimiento en lugar de la degeneración de la retina era más importante para reducir la respuesta del SCN a las entradas de retina. De hecho, la amplitud de la expresión de Fos inducida por la luz en el SCN se reduce significativamente en ratones de edad avanzada, pero es similar en ratones degenerados de tipo salvaje y retinianos.⁴⁹ Además, la presencia de depósitos de lipofuscina se ha demostrado en el envejecimiento de las retinas humanas⁹⁹.

Todas estas condiciones pueden afectar la capacidad del ojo para sincronizar los ritmos circadianos con el ciclo claro-oscuro. Además, la pérdida de ipRGC con el envejecimiento también puede afectar, debido a las proyecciones de estas células hacia el VLPO, la estabilidad del mecanismo del interruptor de flip-flop del sueño, lo que lleva a una mayor propensión a estar despierto durante el sueño.

Por lo tanto, las anomalías del sueño descritas en los ancianos pueden interpretarse como consecuencia de una señal circadiana reducida. Además, a nivel del SCN, los cambios neurodegenerativos que incluyen la pérdida de neuronas que expresan vasopresina y la sensibilidad reducida de la maquinaria del gen del reloj a los estímulos de luz pueden contribuir a una eficiencia reducida del proceso de fotoenvejecimiento.

Además, se han registrado cambios degenerativos de la glándula pineal, anomalías del ritmo circadiano de melatonina, y un aumento en el contenido de calcio de la glándula pineal. La regulación de la síntesis de melatonina y la disminución de la expresión de los receptores de melatonina a nivel SCN se han informado con el envejecimiento^{11,15,92}.

El papel destacado que desempeña el sistema ipRGC-RHT-SCN en la patogénesis de los problemas circadianos y del sueño en el envejecimiento también está respaldado por la mejora de la disfunción del sueño con la terapia de luz^{10, 15, 18}.

Además, la fragmentación del ritmo de actividad de descanso con la edad es relevante para la aparición de déficits cognitivos relacionados con la edad¹⁵ y la estabilidad diaria del ritmo de sueño-vigilia es un fuerte predictor de trastornos cognitivos, así como la pérdida de sueño es un importante predictor de la aparición de demencia^{11,18}. Además, la consolidación de la memoria dependiente del sueño se altera con el envejecimiento¹⁵. El manejo del sueño y la disfunción circadiana que ocurre con la edad puede ser extremadamente importante para contrarrestar el deterioro cognitivo relacionado con la edad.

La aparición de sueño y anomalías circadianas es frecuente (25-40%) en pacientes con EA y puede presentarse temprano en el curso de la enfermedad¹⁵. La severidad de la interrupción del sueño a menudo empeora mientras la enfermedad progresa con los años contribuyendo a la severidad del deterioro cognitivo. La disfunción circadiana del ritmo de la actividad de reposo en pacientes con EA en comparación con los controles de la misma edad se ha estudiado mediante un control actigráfico prolongado y está representada por un ciclo fragmentado de sueño-vigilia con frecuentes despertares durante las siestas nocturnas y diurnas, una mayor variabilidad intradiaria y una menor

estabilidad entre los días ritmo de actividad de reposo, amplitud de ritmo más baja y posterior acrofase⁹⁴.

Estos cambios en los ritmos de actividad de reposo pueden aparecer temprano en el curso de la enfermedad⁹⁴. Además, se ha informado un patrón irregular de sueño-vigilia y un avance de fase del ritmo de sueño-vigilia en pacientes con EA. Además, los pacientes con EA con frecuencia sufren la puesta de sol, es decir, la aparición de agitación motora y conductual al final de la tarde / noche. El ocaso puede considerarse como un trastorno cronobiológico relacionado con un ritmo circadiano anormal de la temperatura corporal y, en particular, con un retraso de fase de este ritmo^{94,95}.

Además, niveles más bajos de melatonina, amplitud reducida del ritmo circadiano de melatonina, ritmo irregular de melatonina, los niveles más bajos de melatonina en el líquido cefalorraquídeo, así como una reducción significativa de la expresión de los receptores de melatonina tipo 1 que caracterizan las etapas avanzadas de AD, también se han documentado en casos preclínicos de EA⁹⁵.

Otros ejemplos de disfunción circadiana en la EA incluyen un retraso de fase y del efecto del ritmo circadiano sobre la temperatura^{94,95}.

La presencia de la desregulación de la temperatura corporal central puede predecir la aparición de trastornos del sueño más graves en estos pacientes. Las anomalías de la frecuencia cardíaca, la presión arterial y el ritmo del cortisol también se han documentado en la EA^{18,94,95}. Al interpretar la disfunción circadiana y del sueño en la EA, se debe tener en cuenta una posible relación de fase anormal entre los ritmos circadianos, como en los ancianos, explicando la discordancia entre el retraso de fase del ritmo de temperatura y el avance de fase informado del ritmo de sueño⁹².

6. Conclusiones.

El objetivo del presente trabajo ha sido el de revisar la evidencia de alteraciones de las células de melanopsina asociadas con el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas y correlacionarlas con los trastornos del ritmo circadiano.

En general, esta revisión ha encontrado evidencia de que tanto el número como la estructura de las células que expresan melanopsina se ven afectadas por el envejecimiento, la enfermedad de la retina y los trastornos neurodegenerativos, y que estas alteraciones se correlacionan con la aparición de trastornos del ritmo circadiano.

Las células ganglionares de melanopsina muestran más resistencia a la lesión celular que el resto de las células ganglionares de la retina, presumiblemente debido a sus propiedades morfológicas y fisiológicas. Sin embargo, estas células se ven igualmente afectadas en algunas condiciones neurodegenerativas, especialmente en etapas avanzadas del proceso degenerativo.

El correcto funcionamiento del sistema circadiano y las células de melanopsina constituye un componente esencial del bienestar y la salud. En consecuencia, cuidar la retina para preservar las células ganglionares de melanopsina y sus funciones esenciales, incluso si se pierde la visión, es esencial para mantener una calidad de vida adecuada. Por otro lado, esta revisión muestra evidencia de que las ipRGC pueden verse afectadas en enfermedades neurodegenerativas con predominio cerebral y que el estudio de la retina puede ser un elemento clave para comprender en detalle la neurodegeneración subyacente a las alteraciones circadianas observadas en diferentes patologías.

7. Referencias.

1. Graham DM, Wong KY. Melanopsin-expressing, intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC). In *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System* [Internet] 2016 Nov 2. University of Utah Health Sciences Center.
2. Keeler CE, Sutcliffe E, Chaffee EL. Normal and “rodless” retinæ of the house mouse with respect to the electromotive force generated through stimulation by light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1928 Jun;14(6):477.
3. Freedman MS, Lucas RJ, Soni B, von Schantz M, Muñoz M, David-Gray Z, Foster R. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science*. 1999 Apr 16;284(5413):502-4.
4. Zaidi FH, Hull JT, Peirson SN, Wulff K, Aeschbach D, Gooley JJ, Brainard GC, Gregory-Evans K, Rizzo III JF, Czeisler CA, Foster RG. Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *Current Biology*. 2007 Dec 18;17(24):2122-8.
5. Provencio I, Jiang G, Willem J, Hayes WP, Rollag MD. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998 Jan 6;95(1):340-5.
6. Provencio I, Rollag MD, Castrucci AM. Anatomy: Photoreceptive net in the mammalian retina. *Nature*. 2002 Jan;415(6871):493.
7. Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*. 2002 Feb 8;295(5557):1065-70.
8. Detwiler PB. Focus: Sensory Biology and Pain: Phototransduction in Retinal Ganglion Cells. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. 2018 Mar;91(1):49.
9. Bonmati-Carrion MÁ, Hild K, Isherwood CM, Sweeney SJ, Revell VL, Madrid JA, Rol MÁ, Skene DJ. Effect of single and combined monochromatic light on the human pupillary light response. *Frontiers in neurology*. 2018;9:1019.
10. Lazzarini Ospri L, Prusky G, Hattar S. Mood, the circadian system, and melanopsin retinal ganglion cells. *Annual review of neuroscience*. 2017 Jul 25;40:539-56.

11. Ortuño-Lizarán I, Esquiva G, Beach TG, Serrano GE, Adler CH, Lax P, Cuenca N. Degeneration of human photosensitive retinal ganglion cells may explain sleep and circadian rhythms disorders in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica communications*. 2018 Dec;6(1):90.
12. Valiente-Soriano FJ, García-Ayuso D, Ortín-Martínez A, Jiménez-López M, Galindo-Romero C, Villegas-Pérez MP, Agudo-Barriuso M, Vugler AA, Vidal-Sanz M. Distribution of melanopsin positive neurons in pigmented and albino mice: evidence for melanopsin interneurons in the mouse retina. *Frontiers in neuroanatomy*. 2014 Nov 20;8:131.
13. Vadnie CA, McClung CA. Circadian rhythm disturbances in mood disorders: insights into the role of the suprachiasmatic nucleus. *Neural plasticity*. 2017;2017.
14. Preußner M, Heyd F. Post-transcriptional control of the mammalian circadian clock: implications for health and disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2016 Jun 1;468(6):983-91.
15. Nakamura TJ, Nakamura W, Tokuda IT, Ishikawa T, Kudo T, Colwell CS, Block GD. Age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions. *eNeuro*. 2015 Jul;2(4).
16. Amare AT, Schubert KO, Klingler-Hoffmann M, Cohen-Woods S, Baune BT. The genetic overlap between mood disorders and cardiometabolic diseases: a systematic review of genome wide and candidate gene studies. *Translational psychiatry*. 2017 Jan;7(1):e1007.
17. Flynn-Evans EE, Tabandeh H, Skene DJ, Lockley SW. Circadian rhythm disorders and melatonin production in 127 blind women with and without light perception. *Journal of biological rhythms*. 2014 Jun;29(3):215-24.
18. Musiek ES, Holtzman DM. Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration. *Science*. 2016 Nov 25;354(6315):1004-8.
19. Leng Y, Musiek ES, Hu K, Cappuccio FP, Yaffe K. Association between circadian rhythms and neurodegenerative diseases. *The Lancet Neurology*. 2019 Mar 1;18(3):307-18.
20. Fain G, Sampath AP. Rod and cone interactions in the retina. *F1000Research*. 2018;7.

21. Curcio CA. Human photoreceptor topography-25 years and looking ahead. In *Frontiers in Optics* 2015 Oct 18 (pp. FM1C-1). Optical Society of America.
22. Nasir-Ahmad S, Lee SC, Martin PR, Grünert U. Melanopsin-expressing ganglion cells in human retina: Morphology, distribution, and synaptic connections. *Journal of Comparative Neurology*. 2019 Jan 1;527(1):312-27.
23. Bellingham J, Chaurasia SS, Melyan Z, Liu C, Cameron MA, Tarttelin EE, Iuvone PM, Hankins MW, Tosini G, Lucas RJ. Evolution of melanopsin photoreceptors: discovery and characterization of a new melanopsin in nonmammalian vertebrates. *PLoS biology*. 2006 Jul 25;4(8):e254.
24. Sonoda T, Lee SK. A novel role for the visual retinoid cycle in melanopsin chromophore regeneration. *Journal of Neuroscience*. 2016 Aug 31;36(35):9016-8.
25. Hu C, Hill DD, Wong KY. Intrinsic physiological properties of the five types of mouse ganglion-cell photoreceptors. *Journal of neurophysiology*. 2013 Jan 23;109(7):1876-89.
26. Ecker JL, Dumitrescu ON, Wong KY, Alam NM, Chen SK, LeGates T, Renna JM, Prusky GT, Berson DM, Hattar S. Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron*. 2010 Jul 15;67(1):49-60.
27. Dhande OS, Stafford BK, Franke K, El-Danaf R, Percival KA, Phan AH, Li P, Hansen BJ, Nguyen PL, Berens P, Taylor WR. Molecular Fingerprinting of On–Off Direction-Selective Retinal Ganglion Cells Across Species and Relevance to Primate Visual Circuits. *Journal of Neuroscience*. 2019 Jan 2;39(1):78-95.
28. Prigge CL, Yeh PT, Liou NF, Lee CC, You SF, Liu LL, McNeill DS, Chew KS, Hattar S, Chen SK, Zhang DQ. M1 ipRGC influence visual function through retrograde signaling in the retina. *Journal of Neuroscience*. 2016 Jul 6;36(27):7184-97.
29. Rodgers J, Peirson SN, Hughes S, Hankins MW. Functional characterisation of naturally occurring mutations in human melanopsin. *Cellular and molecular life sciences*. 2018 Oct 1;75(19):3609-24.
30. Yau KW, Hardie RC. Phototransduction motifs and variations. *Cell*. 2009 Oct 16;139(2):246-64.

31. Sand A, Schmidt TM, Kofuji P. Diverse types of ganglion cell photoreceptors in the mammalian retina. *Progress in retinal and eye research*. 2012 Jul 1;31(4):287-302.
32. Pickard GE, Sollars PJ. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. In *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology 2011* (pp. 59-90). Springer, Berlin, Heidelberg.
33. Jagannath A, Hughes S, Abdelgany A, Potheary CA, Di Pretoro S, Pires SS, Vachtsevanos A, Piorz V, Brown LA, Hossbach M, MacLaren RE. Isoforms of melanopsin mediate different behavioral responses to light. *Current Biology*. 2015 Sep 21;25(18):2430-4.
34. Vartanian GV, Li BY, Chervenak AP, Walch OJ, Pack W, Ala-Laurila P, Wong KY. Melatonin suppression by light in humans is more sensitive than previously reported. *Journal of biological rhythms*. 2015 Aug;30(4):351-4.
35. Zivcevska M, Blakeman A, Lei S, Goltz HC, Wong AM. Binocular Summation in Postillumination Pupil Response Driven by Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2018 Oct 1;59(12):4968-77.
36. Lupi D, Oster H, Thompson S, Foster RG. The acute light-induction of sleep is mediated by OPN4-based photoreception. *Nature neuroscience*. 2008 Sep;11(9):1068.
37. Feigl B, Zele AJ. Melanopsin-expressing intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in retinal disease. *Optometry and Vision Science*. 2014 Aug 1;91(8):894-903.
38. Pickard GE, Sollars PJ. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. In *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology 2011* (pp. 59-90). Springer, Berlin, Heidelberg.
39. Zele AJ, Feigl B, Smith SS, Markwell EL. The circadian response of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *PLOS one*. 2011 Mar 14;6(3):e17860.
40. Blasic Jr JR, Matos-Cruz V, Ujla D, Cameron EG, Hattar S, Halpern ME, Robinson PR. Identification of critical phosphorylation sites on the carboxy tail of melanopsin. *Biochemistry*. 2014 Apr 16;53(16):2644-9.

41. Xue T, Do MT, Riccio A, Jiang Z, Hsieh J, Wang HC, Merbs SL, Welsbie DS, Yoshioka T, Weissgerber P, Stolz S. Melanopsin signalling in mammalian iris and retina. *Nature*. 2011 Nov;479(7371):67.
42. Markwell EL, Feigl B, Zele AJ. Intrinsically photosensitive melanopsin retinal ganglion cell contributions to the pupillary light reflex and circadian rhythm. *Clinical and Experimental Optometry*. 2010 May;93(3):137-49.
43. Evans JA. Collective timekeeping among cells of the master circadian clock. *Journal of Endocrinology*. 2016 Jul 1;230(1):R27-49.
44. Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual review of physiology*. 2010 Mar 17;72:517-49.
45. Nirenberg S, inventor. Optogenetic therapeutic and method of treating retinal degenerative and neurodegenerative diseases. United States patent application US 15/786,886. 2018 Apr 19.
46. De Silva SR, Barnard AR, Hughes S, Tam SK, Martin C, Singh MS, Barnea-Cramer AO, McClements ME, During MJ, Peirson SN, Hankins MW. Long-term restoration of visual function in end-stage retinal degeneration using subretinal human melanopsin gene therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017 Oct 17;114(42):11211-6.
47. Rosenwasser AM, Turek FW. Neurobiology of circadian rhythm regulation. *Sleep medicine clinics*. 2015 Dec 1;10(4):403-12.
48. Hull JT, Czeisler CA, Lockley SW. Suppression of melatonin secretion in totally visually blind people by ocular exposure to white light: clinical characteristics. *Ophthalmology*. 2018 Aug 1;125(8):1160-71.
49. Lupi D, Oster H, Thompson S, Foster RG. The acute light-induction of sleep is mediated by OPN4-based photoreception. *Nature neuroscience*. 2008 Sep;11(9):1068.
50. Altimus CM, Güler AD, Villa KL, McNeill DS, Legates TA, Hattar S. Rods-cones and melanopsin detect light and dark to modulate sleep independent of image formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008 Dec 16;105(50):19998-20003.

51. Tsai JW, Hannibal J, Hagiwara G, Colas D, Ruppert E, Ruby NF, Heller HC, Franken P, Bourgin P. Melanopsin as a sleep modulator: circadian gating of the direct effects of light on sleep and altered sleep homeostasis in *Opn4^{-/-}* mice. *PLoS biology*. 2009 Jun 9;7(6):e1000125.
52. Vandewalle G, Hébert M, Beaulieu C, Richard L, Daneault V, Garon ML, Leblanc J, Grandjean D, Maquet P, Schwartz S, Dumont M. Abnormal hypothalamic response to light in seasonal affective disorder. *Biological psychiatry*. 2011 Nov 15;70(10):954-61.
53. Vandewalle G, Schwartz S, Grandjean D, Vuillaume C, Balteau E, Degueldre C, Schabus M, Phillips C, Luxen A, Dijk DJ, Maquet P. Spectral quality of light modulates emotional brain responses in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010 Nov 9;107(45):19549-54.
54. Mongrain V, Dumont M. Increased homeostatic response to behavioral sleep fragmentation in morning types compared to evening types. *Sleep*. 2007 Jun 1;30(6):773-80.
55. Calkins DJ. Age-related changes in the visual pathways: blame it on the axon. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2013 Dec 1;54(14):ORSF37-41.
56. Celebi AR, Mirza GE. Age-related change in retinal nerve fiber layer thickness measured with spectral domain optical coherence tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2013 Dec 1;54(13):8095-103.
57. Feuer WJ, Budenz DL, Anderson DR, Cantor L, Greenfield DS, Savell J, Schuman JS, Varma R. Topographic differences in the age-related changes in the retinal nerve fiber layer of normal eyes measured by Stratus™ optical coherence tomography. *Journal of glaucoma*. 2011 Mar;20(3):133.
58. Guo L, Duggan J, Cordeiro MF. Alzheimer's disease and retinal neurodegeneration. *Current Alzheimer Research*. 2010 Feb 1;7(1):3-14.
59. Busch S, Wu L, Feng Y, Gretz N, Hoffmann S, Hammes HP. Alzheimer's disease and retinal neurodegeneration share a consistent stress response of the neurovascular unit. *Cellular physiology and biochemistry*. 2012;30(6):1436-43.
60. Ong YT, Hilal S, Cheung CY, Venketasubramanian N, Niessen WJ, Vrooman H, Anuar AR, Chew M, Chen C, Wong TY, Ikram MK. Retinal neurodegeneration

- on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neuroscience letters*. 2015 Jan 1;584:12-6.
61. Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*. 1986 Aug 21;315(8):485-7.
 62. Frost S, Guymer R, Zaw Aung K, Lance Macaulay S, R Sohrabi H, Bourgeat P, Salvado O, C Rowe C, Ames D, L Masters C, N Martins R. Alzheimer's disease and the early signs of age-related macular degeneration. *Current Alzheimer Research*. 2016 Nov 1;13(11):1259-66.
 63. Blanks JC, Hinton DR, Sadun AA, Miller CA. Retinal ganglion cell degeneration in Alzheimer's disease. *Brain research*. 1989 Nov 6;501(2):364-72.
 64. Williams PA, Thirgood RA, Oliphant H, Frizzati A, Littlewood E, Votruba M, Good MA, Williams J, Morgan JE. Retinal ganglion cell dendritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*. 2013 Jul 1;34(7):1799-806.
 65. Perez-Rico C, Blanco R, Germain F, Paz-Moreno J, Arribas-Gómez I. Alterations in nocturnal melatonin secretion in patients with optic neuropathies. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 2009 May;84(5):251-7.
 66. Liu B, Rasool S, Yang Z, Glabe CG, Schreiber SS, Ge J, Tan Z. Amyloid-peptide vaccinations reduce β -amyloid plaques but exacerbate vascular deposition and inflammation in the retina of Alzheimer's transgenic mice. *The American journal of pathology*. 2009 Nov 1;175(5):2099-110.
 67. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, Miller CA, Ko MK, Black KL, Schwartz M, Farkas DL. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *Neuroimage*. 2011 Jan 1;54:S204-17.
 68. Parisi V. Correlation between morphological and functional retinal impairment in patients affected by ocular hypertension, glaucoma, demyelinating optic neuritis and Alzheimer's disease. In *Seminars in ophthalmology* 2003 Jan 1 (Vol. 18, No. 2, pp. 50-57). Taylor & Francis.

69. Iseri PK, Altinas Ö, Tokay T, Yüksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *Journal of neuro-ophthalmology*. 2006 Mar 1;26(1):18-24.
70. Berisha F, Feke GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007 May 1;48(5):2285-9.
71. Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clinical neurology and neurosurgery*. 2011 Sep 1;113(7):523-6.
72. Lu Y, Li Z, Zhang X, Ming B, Jia J, Wang R, Ma D. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: evidence in optical coherence tomography. *Neuroscience letters*. 2010 Aug 9;480(1):69-72.
73. Brusini P, Johnson CA. Staging functional damage in glaucoma: review of different classification methods. *Survey of ophthalmology*. 2007 Mar 1;52(2):156-79.
74. Wostyn P, Audenaert K, De Deyn PP. Alzheimer's disease: Cerebral glaucoma. Medical hypotheses. 2010 Jun 1;74(6):973-7.
75. Sartucci F, Borghetti D, Bocci T, Murri L, Orsini P, Porciatti V, Origlia N, Domenici L. Dysfunction of the magnocellular stream in Alzheimer's disease evaluated by pattern electroretinograms and visual evoked potentials. *Brain research bulletin*. 2010 May 31;82(3-4):169-76.
76. Krasodomska K, Lubiński W, Potemkowski A, Honczarenko K. Pattern electroretinogram (PERG) and pattern visual evoked potential (PVEP) in the early stages of Alzheimer's disease. *Documenta Ophthalmologica*. 2010 Oct 1;121(2):111-21.
77. Fotiou DF, Stergiou V, Tsiptsios D, Lithari C, Nakou M, Karlovasitou A. Cholinergic deficiency in Alzheimer's and Parkinson's disease: evaluation with pupillometry. *International Journal of Psychophysiology*. 2009 Aug 1;73(2):143-9.
78. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. Visual symptoms in Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Movement disorders*. 2011 Nov;26(13):2387-95.

79. Diederich NJ, Pieri V, Hipp G, Rufra O, Blyth S, Vaillant M. Discriminative power of different nonmotor signs in early Parkinson's disease. A case-control study. *Movement Disorders*. 2010 May 15;25(7):882-7.
80. Postuma RB, Gagnon JF, Vendette M, Montplaisir JY. Markers of neurodegeneration in idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder and Parkinson's disease. *Brain*. 2009 Oct 20;132(12):3298-307.
81. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. The retina in Parkinson's disease. *Brain*. 2009 Mar 31;132(5):1128-45.
82. Bodis-Wollner I. Retinopathy in Parkinson disease. *Journal of neural transmission*. 2009 Nov 1;116(11):1493.
83. Zhang DQ, Sollars PJ, Pickard GE, McMahon DG. Signaling by Ganglion-Cell photoreceptors to Dopaminergic Amacrine Cells Requires the Photopigment Melanopsin and AMPA-Type Glutamate Receptors. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2010 Apr 17;51(13):1206-.
84. Ramsey DJ, Ramsey KM, Vavvas DG. Genetic advances in ophthalmology: the role of melanopsin-expressing, intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in the circadian organization of the visual system. In *Seminars in ophthalmology* 2013 Sep 1 (Vol. 28, No. 5-6, pp. 406-421). Taylor & Francis.
85. Yavas GF, Yilmaz Ö, Küsbeci T, Öztürk F. The effect of levodopa and dopamine agonists on optic nerve head in Parkinson disease. *European journal of ophthalmology*. 2007 Jul;17(5):812-6.
86. Altıntaş Ö, Işeri P, Özkan B, Çağlar Y. Correlation between retinal morphological and functional findings and clinical severity in Parkinson's disease. *Documenta Ophthalmologica*. 2008 Mar 1;116(2):137-46.
87. Hajee ME, March WF, Lazzaro DR, Wolintz AH, Shrier EM, Glazman S, Bodis-Wollner IG. Inner retinal layer thinning in Parkinson disease. *Archives of ophthalmology*. 2009 Jun 8;127(6):737-41.
88. Moschos MM, Tagaris G, Markopoulos L, Margetis L, Tsapakis S, Kanakis M, Koutsandrea C. Morphologic changes and functional retinal impairment in patients with Parkinson disease without visual loss. *European journal of ophthalmology*. 2011 Jan;21(1):24-9.

89. Cubo E, Tedejo RP, Rodriguez Mendez V, López Peña MJ, Trejo Gabriel y Galán JM. Retina thickness in Parkinson's disease and essential tremor. *Movement Disorders*. 2010 Oct 30;25(14):2461-2.
90. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. Retinal thickness in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. 2011 Jul 1;17(6):431-6.
91. Pfeffer M, Plenzig S, Gispert S, Wada K, Korf HW, Von Gall C. Disturbed sleep/wake rhythms and neuronal cell loss in lateral hypothalamus and retina of mice with a spontaneous deletion in the ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 gene. *Neurobiology of aging*. 2012 Feb 1;33(2):393-403.
92. Auger RR, Boeve BF. Sleep disorders in neurodegenerative diseases other than Parkinson's disease. In *Handbook of clinical neurology* 2011 Jan 1 (Vol. 99, pp. 1011-1050). Elsevier.
93. Neikrug AB, Ancoli-Israel S. Sleep disorders in the older adult—a mini-review. *Gerontology*. 2010;56(2):181-9.
94. Hu K, Van Someren EJ, Shea SA, Scheer FA. Reduction of scale invariance of activity fluctuations with aging and Alzheimer's disease: Involvement of the circadian pacemaker. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Feb 24;106(8):2490-4.
95. Duncan MJ. Interacting influences of aging and Alzheimer's disease on circadian rhythms. *European Journal of Neuroscience*. 2019 Jan 28.
96. Jorge Alberto Pérez-León y R. Lane Brown Las células con melanopsina: nuevos fotorreceptores en la retina de los vertebrados. *REB* 28(1): 9-18, 2009.
97. Semo M, Peirson S, Lupi D, Lucas RJ, Jeffery G, Foster RG. Melanopsin retinal ganglion cells and the maintenance of circadian and pupillary responses to light in aged rodless/coneless (rd/rd cl) mice. *Eur J Neurosci*. 2003 May;17(9):1793-801.
98. Lax P, Ortuño-Lizarán I, Maneu V, Vidal-Sanz M, Cuenca N. Photosensitive Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells in Health and Disease: Implications for Circadian Rhythms. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 28;20(13).
99. Vugler AA, Redgrave P, Semo M, Lawrence J, Greenwood J, Coffey PJ. Dopamine neurones form a discrete plexus with melanopsin cells in normal and degenerating retina. *Exp Neurol*. 2007 May;205(1):26-35.

