

PIGMENTS, GRANOTES I OPTOGRAMES

UNA HISTÒRIA SOBRE LES BASES MOLECULARS DE LA VISIÓ

Escrit per:

Miquel Tuson

Doctorand del Dept. de Genètica
Universitat de Barcelona

Durant la segona meitat del segle XIX, els treballs de pioners com Franz Boll i Wilhelm Kühne sobre la bioquímica del pigment visual van assentar els fonaments del que posteriorment, al segle XX, es va convertir en els estudis moderns sobre les bases moleculars de la visió. Aquests estudis –duts a terme inicialment per George Wald, Ruth Hubbard i Paul Brown, entre d'altres– van obrir la porta al coneixement que tenim actualment de les molècules que intervenen en la visió; un coneixement que, a la darreria del segle XX i començament del XXI, s'ha anat ampliant de la mà de la biologia molecular i la genètica. En aquest article de revisió històrica recorrerem les primeres passes que científics com Boll, Kühne i Wald van fer en l'apassionant món de la bioquímica de la visió.

Franz Boll, Wilhelm Kühne i el pigment visual

El pigment vermell que es decolorava amb la llum

L'any 1851, H. Müller va observar per primer cop que la retina era un teixit de coloració vermella i va atribuir aquest fet a la presència d'hemoglobina (Müller 1851). Anys més tard, l'històleg i fisiòleg alemany Franz Christian Boll (1849 – Davos, 1879), que treballava a

la Universitat de Roma, va demostrar que el pigment vermellós de la retina era propi dels bastons (Boll 1877). En els seus treballs amb retines de granota, Boll va observar que vint segons després d'extreure la retina de l'ull de la granota, la pigmentació vermella virava a un color groguenc i que, un minut després de l'extracció, es decolorava del tot. Ràpidament va abandonar la creença que la decoloració de la retina era conseqüència de la mort de l'animal, perquè va observar que les retines extretes d'animals que havien estat mantinguts en la foscor conservaven la coloració vermella; en canvi, en presència de llum es produïa la decoloració de la retina, tant *in vivo* com en retines aïllades. Boll també va observar que el patró de decoloració que resultava de l'exposició selectiva a la llum coincidia amb les àrees de la retina que havien rebut llum. Així, va postular que la llum era el factor que desencadenava la decoloració del teixit retinal, i que la coloració es recuperava si, després de l'exposició a la llum, l'animal es mantenia dues hores en la foscor. Mitjançant prismes, va determinar que la coloració no desapareixia quan exposava les granotes a llum vermella i sí que ho feia en presència de llum groga i, més ràpidament, de llum verda. Finalment, va postular que els bastons

havien de contenir una substància que permetés la impressió de la llum en el cervell. En el seu treball de 1877 sobre l'anatomia i la fisiologia de la retina, Boll va escriure: “La coloració de la retina es perd *in vivo* d'una manera constant per l'acció de la llum que incideix en l'ull. Una exposició llarga a la llum del sol decolora la retina completament. La coloració es recupera *in vivo* en la foscor. Aquest canvi, que es produeix al segment extern dels bastons, forma part de manera indiscutible del procés de la visió” (Boll 1877).

La porpra visual és una proteïna

El mateix any de la publicació del treball de Franz Boll, el fisiòleg alemany Wilhelm Friedrich Kühne (Heidelberg, 1837 – 1900; Figura 1) va començar els seus monumentals estudis sobre la bioquímica del procés visual. Kühne, professor de fisiologia a Amsterdam i Heidelberg, on va succeir Helmholtz en la càtedra de fisiologia el 1871, havia fet grans contribucions a l'estudi de la transmissió nerviosa fins al teixit muscular i a la química de la digestió. A ell li devem els termes *miosina* (proteïna que va identificar el 1863), *tripsina* (que va aïllar del suc pancreàtic el 1876) i la utilització del mot *enzim* (del grec *enzymos*, ‘acció del llevat’) en comptes de *diastasa* (del grec *diastasis*, ‘separació’) per referir-se a substàncies com la tripsina, que degradaven altres substàncies biològiques.

A banda de la seva contribució en altres àrees de la fisiologia, Wilhelm Kühne va ser un personatge cabdal en la bioquímica de la darrereria del segle XIX perquè va establir les bases moleculars de la visió, entre les quals cal destacar l'aïllament i caracterització de la rodopsina i l'anàlisi dels processos de fotoactivació i regeneració del pigment visual. Kühne duia a terme els experiments en una cambra fosca i el seu model d'estudi, com el de Franz Boll, era la retina de granota. El mètode de Kühne consistia a extreure la retina dels ulls de les granotes, conjuntament amb l'epiteli pigmentari (vegeu Glossari), i tractar-la amb una solució d'alum potàssic (vegeu Glossari) per separar-la de l'epiteli pigmentari. Amb aquesta metodologia, va poder observar en retines intactes que el pigment es concentrava als segments externs (vegeu Glossari) dels bastons i, mitjançant un tractament amb sals biliars, el va poder solubilitzar i extreure per primer cop, i el va anomenar *sehporpur* ('porpra visual', 'rodopsina'; Kühne 1878). Va descriure els segments externs dels bastons com si estiguessin envoltats d'una làmina proteica que a l'interior contenia el que ell anomenava *plaquetes*, i que actualment coneixem com a *discos*, i va observar que en el procés de solubilització amb sals biliars els segments externs “explotaven com si fossin coets plens de monedes”.

Kühne va anar més enllà en l'anàlisi de la decoloració



Figura 1. Wilhelm Friedrich Kühne (1837–1900)

de la retina que va encetar Boll, i va determinar amb exactitud els diferents estadis de fotoactivació que reconeixem actualment. Va determinar que aquest procés constava d'una sèrie d'etapes, i que cadascuna havia d'estar caracteritzada per una substància diferent. Mitjançant un prisma, va observar que, si no havia estat excitada per la llum, la retina que contenia el pigment porpra (actualment, opsina unida a 11-*cis*-retinal) emetia fluorescència blava en presència de llum ultraviolada. En incidir-hi la llum del sol, es produïa el viratge de color, del qual resultava una substància groguenca (actualment, opsina unida a tot-*trans*-retinal) que presentava més absorció de llum que la rodopsina a longituds d'ona curtes, i, finalment, l'estadi de decoloració completa caracteritzat per una substància incolora que emetia fluorescència verda (actualment, tot-*trans*-retinol lliure). Les transicions observades en la coloració i en l'espectre d'absorció eren atribuïbles a la natura del pigment visual, perquè es produïen tant en retines intactes com en una solució de rodopsina (Figura 2). Finalment, Kühne va postular que la rodopsina era una proteïna, ja que no es difonia a través d'una membrana semipermeable, i va determinar que la decoloració era un procés fotoquímic i no pas tèrmic, perquè no es materialitzava si la llum incident era infraroja (Wolf 2001).

Kühne, juntament amb Steiner, va ser dels primers investigadors que va mesurar respostes elèctriques en retines aïllades quan eren il·luminades, i va correlacionar aquest fenomen amb el procés de decoloració del pigment visual.

Visió sense porpra visual

Kühne va aplicar a altres tipus d'organismes els seus estudis sobre

la retina. Així, va descriure que els cons de la fòvea (vegeu Glossari) de la retina humana no contenen rodopsina, com tampoc les retines de certes aus i rèptils que presentaven cons com a úniques cèl·lules fotoreceptores, les quals contenen grànuls d'un pigment diferent. Kühne va anomenar aquest fenomen *visió sense porpra visual* (Wolf 2001). També va constatar que les aus de rapinya nocturnes tenien uns bastons amb uns segments externs molt llargs i d'un color porpra molt intens. Actualment, sabem que els bastons –majoritaris en la perifèria de la retina humana– són sensibles a intensitats baixes de llum i permeten la visió en blanc i negre; en canvi, els cons, que a la retina humana es concentren a la zona central o màcula, són cèl·lules fotoreceptores especialitzades en la visió diürna, responen a intensitats altes de llum i permeten de veure-hi en colors.

Ja al 1881, Parinaud va escriure: “Hi ha dues menes de sensibilitat a la llum. La primera és la sensibilitat a la llum tènue, sense colors; en són responsables els bastons, i depèn de la porpra visual. La segona, que correspon als cons, permet detectar lleugeres diferències de color i d'el·luminació” (Parinaud 1881). Els cons contenen tres tipus d'opsina diferent, cadascuna de les quals és específica d'una població de cons en concret i està codificada per un gen diferent del gen que codifica la rodopsina dels bastons: OPN1LW és el gen que codifica l'opsina verda dels cons i es troba situat en Xq28; OPN1MW codifica l'opsina vermella dels cons i es troba en Xq28, i OPN1SW codifica l'opsina blava dels cons i és en



Figura 2. Reacció de decoloració de la rodopsina en solució

7q32.1 (Nathans, Thomas i Hogness 1986). Cadascuna de les tres poblacions de cons responen a longituds d'ona diferents segons l'opsina que expressin, i és aquesta resposta diferencial a longituds d'ona “verdes”, “vermelles” i “blaves” la que ens permet integrar la visió en colors. El descobriment dels tres gens de les opsines va permetre determinar la base genètica de la teoria tricromàtica de la visió humana en colors que havia estat postulada per Thomas Young gairebé dos-cents anys abans (Young 1802). Finalment, RHO és el gen que codifica la rodopsina dels bastons i es troba situat en 3q22.1 (Nathans i Hogness 1984). D'una banda, les mutacions en els gens de les opsines són responsables de la ceguesa parcial als colors, que a l'Europa occidental afecta un 8% dels mascles. D'altra banda, les mutacions en el gen de la rodopsina produeixen retinitis pigmentària, una degeneració retinal progressiva que es caracteritza per la mort dels fotoreceptors (bastons) i que és la causa majoritària de la ceguesa de tipus hereditari.

El paper de l'epiteli pigmentari en la regeneració del pigment visual

En els seus treballs, Kühne també va analitzar la importància de l'epiteli pigmentari de la retina en el procés de regeneració del pigment visual després de la fotoactivació. Quan extreia l'ull d'una granota i l'exposava a la llum durant mitja hora, observava la pèrdua de coloració de la retina, que es recuperava si a continuació mantenia l'ull en la foscor. La decoloració en l'ull aïllat es produïa de manera anàloga al que succeïa *in vivo* en l'animal, i per tant era un procés independent de la circulació sanguínia. La regeneració del pigment, però, no es produïa en una retina de la qual s'havia separat l'epiteli pigmentari. En canvi, si posava en contacte la retina decolorada amb un tros d'epiteli pigmentari aïllat, la coloració porpra de la rodopsina regenerada tornava a aparèixer i, contràriament, no ho feia si entre la retina i l'epiteli pigmentari hi interposava una plaqueta de porcellana. La regeneració del pigment es produïa si el fragment d'epiteli

pigmentari aïllat provenia d'una granota que havia estat sacrificada feia menys d'una hora, i no es produïa si el temps *post mortem* era superior. També va observar que la regeneració no passa per un estadi intermedi de coloració groguenca, com succeeix en la decoloració.

Com hem vist, la coloració groguenca és atribuïble a la forma tot-*trans* del cromòfor unit a l'opsina, la qual únicament és present immediatament després de la fotoactivació i no pas en la regeneració. Fins i tot, Kühne va reconstituir el pigment visual en posar en contacte rodopsina en solució amb un extracte d'epiteli pigmentari, i va demostrar així que l'epiteli pigmentari contenia una substància necessària per a la regeneració de la rodopsina. Finalment, va constatar que la regeneració era un procés de tipus enzimàtic com aquells que havia caracteritzat en la digestió, perquè era sensible a la temperatura i no es produïa per sobre dels 45°C, i va suposar que en una situació d'il·luminació tènue hi hauria d'haver un equilibri entre els processos de decoloració i de regeneració de la rodopsina. Mitjançant aquesta sèrie d'experiments senzills, elegants i acurats, que constitueixen també un dels primers exemples de la introducció de controls en l'experimentació, Wilhelm Kühne va establir el paper essencial de l'epiteli pigmentari de la retina en la regeneració de la rodopsina (Wolf 2001).

La retina és com una placa fotogràfica

Wilhelm Kühne va néixer deu anys després que Joseph Nicéphore realitzés la fotografia més antiga que es conserva, i va viure en un segle caracteritzat, entre altres revolucions tècniques, per la fotografia. Durant la primera meitat del segle XIX, es van desenvolupar els fonaments de la fotografia moderna i es van anar succeint els mètodes fotogràfics (daguerrotip, calotip) i els perfeccionaments respectius de manera vertiginosa. Els estudis de Kühne van tenir com a escenari de fons tots aquests desenvolupaments tècnics, que d'una manera o altra van deixar una empremta important en una part de l'obra del fisiòleg alemany.

En el seu primer treball sobre la química de la visió, Kühne va escriure: “Conjuntament amb l'epiteli pigmentari, la retina no tan sols actua com una placa fotogràfica, sinó com un estudi fotogràfic sencer, en el qual el fotògraf renova contínuament les plaques i les substitueix per material sensible a la llum nou mentre esborra les imatges antigues” (Kühne 1877). D'aquesta manera, suposava que podria fer servir l'ull com una càmera fotogràfica gràcies a la natura química del procés de decoloració de la retina en presència de la llum solar. I així ho va intentar en una sèrie d'experiments sense gaire bons resultats. Finalment se'n va sortir, i després de disseccionar les retines de granotes que havien estat observant la flama d'una espelma durant catorze hores en una cambra fosca i fixar-les amb un tractament d'alum potàssic, va detectar una zona decolorada que corresponia a la imatge invertida de la flama (Wolf 2001). Kühne va anomenar la imatge *optograma* i la tècnica per la qual l'havia obtinguda *optografia*.

El bioquímic i Premi Nobel de Medicina del 1967, George Wald, en un article titulat *Eye and Camera*, publicat a mitjan segle passat, descriu de manera minuciosa la tècnica que va fer servir Kühne per generar optogrames: «Un dels primers optogrames de Kühne va ser obtingut de la manera següent: va lligar un conill albi de cara a una finestra que tenia un marc barrat. Des d'aquesta posició, l'única cosa que podia veure el conill era un cel gris i ennuvolat. El cap de l'animal va ser cobert durant diversos minuts amb una tela per deixar que els ulls s'adaptessin a la foscor i d'aquesta manera permetre l'acumulació de rodopsina als bastons. Tot seguit, l'animal va ser exposat a la llum durant tres minuts. Immediatament va ser decapitat, en va extreure els ulls i els va disseccionar per la part medial, i va fixar la meitat que contenia la retina amb una solució d'alum. L'endemà, Kühne va poder observar impresa en la retina, gràcies a la decoloració de la rodopsina, la imatge de la finestra amb el patró de barres ben definit» (Wald 1953).

Les observacions de Kühne van aparèixer

en les columnes científiques de diaris i publicacions periòdiques d'arreu del món, i d'aquesta manera van acabar fent el salt a la cultura popular. Durant la darrerria del segle XIX, es va anar estenent la creença popular que la imatge d'un assassí restava impresa en les retines de la seva víctima i que aquesta imatge podria servir per revelar el culpable; fins i tot, en alguns departaments de policia es van començar a fotografiar de ben a prop els ulls de les víctimes d'assassinats amb l'esperança de descobrir-ne els autors materials. Un d'aquests casos, en els quals la policia va intentar aplicar sense èxit l'optografia com a eina criminològica, va ser la investigació per part d'Scotland Yard dels assassinats en sèrie perpetrats per Jack l'Esbudellador al barri de Whitehall a Londres el 1888. D'aquesta manera, els optogrames van acabar formant part de la literatura, en obres tan destacades com *l'Ulisses* de James Joyce o en les dels 'Viatges extraordinaris' de Jules Verne (Evans 1993), però no han acabat pas triomfant entre les tècniques que apliquen els moderns CSI (*Crime Scene Investigators*, policies forenses).

George Wald i la natura de les molècules que capten la llum

Com hem vist, els fonaments de la química de la visió van ser establerts a finals del segle XIX pel fisiòleg alemany Wilhelm Kühne, però l'estudi de la natura de les molècules sensibles a la llum que contenen els fotoreceptors va haver d'esperar fins ben entrat el segle XX, quan, de la mà de George Wald i col·laboradors, es van assentar les bases del que coneixem com a *cicle visual*. En paral·lel, l'estudi de patologies com la ceguesa nocturna i la xeroftàlmia va permetre caracteritzar la molècula associada a l'aparició d'aquestes condicions i establir el vincle entre aquesta molècula i el procés visual.

La deficiència d'un "factor accessori" i la ceguesa nocturna

Els egipcis van deixar constància dels primers casos històrics que coneixem de

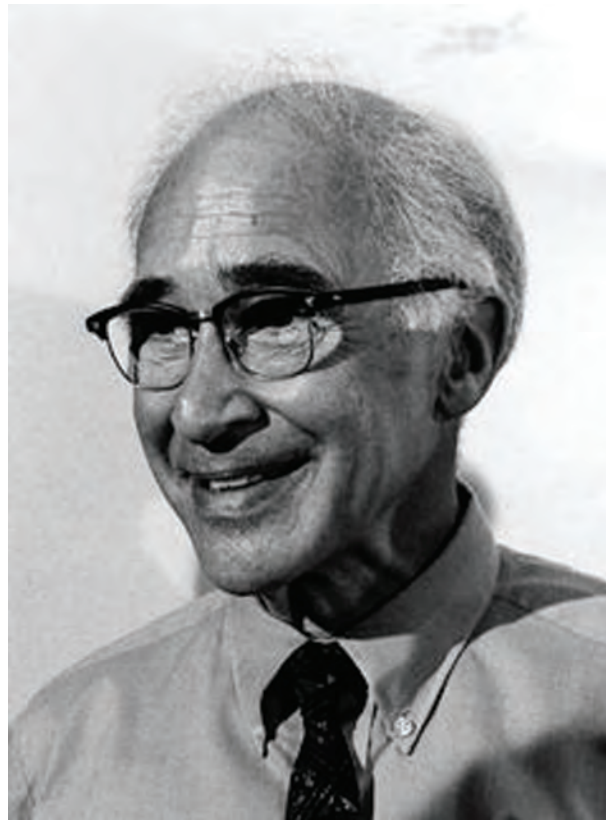


Figura 3. George Wald (1906–1997)

ceguesa nocturna. Hipòcrates (460–325 aC) en va descriure la malaltia, que atribuïa a un estat de malnutrició i que tractava amb la ingesta de fetge cru. Ja en època moderna, una altra malaltia ocular, la xeroftàlmia, va ser relacionada amb la malnutrició, i Bloch el 1917 va poder revertir totes dues patologies gràcies a la inclusió de llet i mantega en la dieta (Wolf 2001). Així, hi havia d'haver un factor en la llet i en la mantega que en cas de manca fos el responsable de la xeroftàlmia i la ceguesa nocturna que apareixien en condicions de malnutrició. Una sèrie de treballs realitzats durant els anys deu del segle XX van conduir a la identificació d'un “factor accessori soluble en greixos”, la deficiència del qual causava xeroftàlmia en rates (Osborne i Mendel 1913; McCollum i Davis 1913, 1915).

En la dècada següent, aquest factor va ser anomenat *vitamina A soluble en greixos* (Drummond 1920). El vincle entre la vitamina A i el procés visual va ser establert a partir del treball de Fridericia i Holm, que a mitjan anys vint van investigar l'efecte de la deficiència

en vitamina A en la regeneració de la rodopsina (Fridericia i Holm 1925). En aquest estudi, es van administrar dues dietes diferents a dos grups de rates: un grup va ser alimentat amb una aportació de greixos que provenia de la mantega, i les altres amb llard. Entre la quarta i la setena setmana d'administració, el grup alimentat amb llard començava a desenvolupar signes de xeroftàlmia. Tots dos grups van ser mantinguts en una situació d'il·luminació intensa durant diversos dies i després van ser traslladats a la foscor per permetre el procés de regeneració de la rodopsina; un cop en la foscor, es van anar sacrificant les rates de manera seqüencial i se'n van disseccionar els ulls per tal de mesurar la taxa de regeneració en cadascun dels dos grups. Els investigadors van poder determinar que la taxa de regeneració de la rodopsina del grup de rates alimentades amb llard era un terç de la del grup de rates que havien estat alimentades amb mantega i, per tant, la vitamina A soluble en greixos, present en la mantega, era necessària per tal que es pogués regenerar la rodopsina en la foscor (Fridericia i Holm 1925).

George Wald i el cicle visual

A partir dels anys trenta, una sèrie d'experiments van permetre identificar de manera indiscutible la presència de vitamina A a la retina i la relació que manté amb la funció visual. El 1931, Yudkin va prendre com a mostra diverses rates alimentades amb una dieta deficient en vitamina A que havien desenvolupat xeroftàlmia i havien perdut pes, i les va tractar amb 50 mg diaris de teixit retinal

dessecat (obtingut a partir de les retines i epitelis pigmentaris de 100 porcs). Els animals tractats van recuperar pes i van revertir la patologia ocular, i Yudkin va demostrar directament, a partir del test colorimètric de Rosenheim i Drummond, la presència de vitamina A a la retina (Yudkin 1931; Rosenheim i Drummond, 1925). Pocs anys més tard, George Wald (Nova York, 1906 – 1997; Figura 3) va identificar espectroscòpicament la presència de vitamina A a la retina de la granota (Wald 1935b).

Wald havia estat deixeble del biofísic Selig Hecht (Glogow, 1892 – Nova York, 1947), que a començament del segle xx havia realitzat estudis sobre la fisiologia dels sistemes fotosensibles en organismes com l'uroidat *Ciona*, el mol·lusc bivalve *Mya arenaria*, i també del sistema visual en humans. En els seus estudis sobre els efectes de la llum i l'adaptació a la foscor, Hecht havia demostrat que els mecanismes que intervenen en la visió segueixen lleis fisicoquímiques. També havia introduït la idea que la molècula fotosensible del sistema visual (*substància S*, tal com l'anomenava) es descomponia per l'acció de la llum en dos productes –P i A (adaptació a la llum)– i que aquestes dues substàncies es tornaven a associar en una situació de foscor per tal de reconstituïr la substància S (adaptació a la foscor; Hecht 1919).

Al laboratori de Hecht, Wald hi va estudiar el procés d'adaptació a la foscor en humans i el mecanisme visual de *Drosophila*, però no va aprofundir en les bases bioquímiques de la visió que

tant l'interessaven. L'any 1932, Wald va inaugurar la seva etapa postdoctoral a Berlín, al laboratori del bioquímic Otto Warburg, on va començar els treballs per tal de dilucidar l'estructura dels pigments visuals, seguint les passes que al segle anterior havien iniciat Franz Boll i Wilhelm Kühne. Wald, basant-se en l'espectre d'absorció de la rodopsina, suposava que el pigment visual era una proteïna unida a un carotenoide i així, seguint el suggeriment de Warburg i per tal de respondre aquesta qüestió, va anar al laboratori de Paul Kerrer a Zuric, que feia poc que havia determinat l'estructura de la vitamina A i del β -carotè. Un cop allà, al cap de tres mesos Wald i Kerrer van demostrar la presència de vitamina A en retines bovines, ovines i porcines.

Després de l'estada a Suïssa, Wald va retornar a Alemanya per treballar al laboratori d'Otto Meyerhof a Heidelberg, però el National Research Council dels Estats Units, que el finançava, li va aconsellar que tornés a Amèrica pel perill que suposava l'ascens de Hitler al poder, el gener del 1933. L'estiu d'aquell any, abans de tornar als Estats Units, una casualitat va fer que Wald comencés a treballar en el que més tard es coneixeria com a *cicle visual*. Un carregament de tres-centes granotes havia arribat al laboratori i, com que tothom era de vacances, el tècnic havia decidit desfer-se'n. Wald va demanar si en podia disposar i va començar a extreure'n les retines i a tractar-les amb diversos solvents per tal d'estudiar-ne el carotenoide associat. D'aquesta manera, mig segle més tard dels experiments de Wilhelm Kühne, les

Figura 4. Diagrama del cicle visual dibuixat per George Wald (Wald 1934)

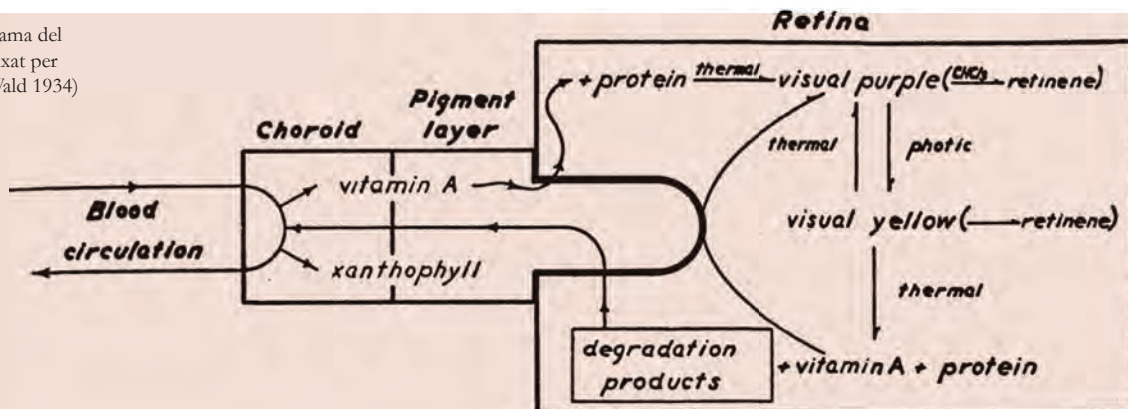
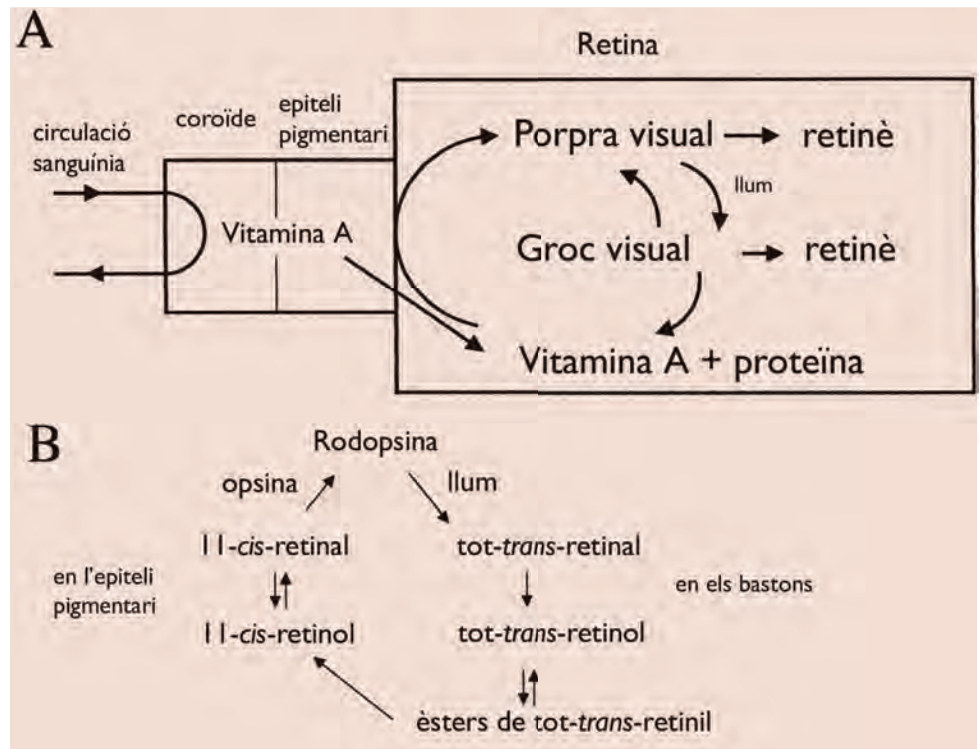


Figura 5. A. Diagrama del cicle visual (adaptat de Wald 1934). La porpra visual (actualment *rodopsina*) és l'opsina unida a la forma 11-*cis*-retinal del cromòfor. El groc visual és l'opsina unida a tot-*trans*-retinal. El retinè és la forma aldehid del cromòfor, que actualment denominem *retinal*. **B.** Diagrama del cicle visual com el coneixem en l'actualitat (adaptat de Wolf 2001).



granotes van tornar a ocupar el centre de les investigacions sobre el pigment visual. En retines adaptades a la foscor i en retines decolorades fins a l'estadi de “groc visual”, Wald va identificar un carotenoide lleugerament diferent de la vitamina A segons el seu espectre d'absorció, i el va anomenar *retinè*; en canvi, les retines en estadi de “blanc visual” no contenien retinè i contenien vitamina A. A partir d'aquests resultats, Wald va proposar l'existència d'un cicle visual (Figura 4), segons el qual el retinè que es troba unit a rodopsina en condicions de foscor s'allibera de la rodopsina per l'acció de la llum de manera que es produeix el “groc visual”, i més tard es converteix en vitamina A i es produeix el “blanc visual” (Wald 1935a). Segons Wald, la regeneració de la rodopsina, que comporta la unió del retinè altre cop a l'opsina, tanca el cicle. Wald va retornar als Estats Units, a Chicago, però abans va enviar una nota a la revista *Nature* amb aquests resultats (Wald 1934).

L'any 1934, Wald va començar a treballar com a professor a Harvard, on va continuar els estudis sobre el cicle visual en altres organismes. Va aïllar un nou pigment visual en els bastons dels peixos d'aigua dolça que va anomenar *porfiropsina* i dos nous carotenoides, el retinè₂ i la vitamina A₂ (Wald 1939a, 1939b). També en aquella època va iniciar els estudis sobre els pigments visuals dels cons, en els quals va identificar un nou fotopigment que va anomenar *iodopsina*. Després del punt mort que va suposar la Segona Guerra Mundial, Wald, conjuntament amb Ruth Hubbard i Paul

Brown, va poder continuar els estudis sobre la bioquímica dels pigments visuals. El 1946, Ball, Goodwin i Morton, a Liverpool, van demostrar que el retinè era la forma aldehid de la vitamina A (Ball, Goodwin i Morton 1946). A partir de llavors, el retinè es va passar a anomenar *retinal* i la vitamina A, *retinol*, que són els termes que s'han utilitzat fins a l'actualitat (Figura 5).

Al laboratori de Wald durant la primera meitat de la dècada dels cinquanta, Hubbard hi va estudiar la conversió enzimàtica de retinal a retinol (Hubbard i Wald 1949), i Brown va poder generar rodopsina gràcies a mesclar retinal i opsina en una reacció espontània que no necessitava la participació de cap enzim (Wald i Brown 1950). A partir de l'observació que la síntesi de rodopsina no es produïa quan es barrejava retinol sintètic i opsina, i en canvi sí que ho feia a partir de retinol derivat d'oli de peix, Wald, Hubbard i Brown van descobrir el paper de la isomerització *cis-trans* dels carotenoides en la funció visual (Hubbard i Wald 1952), i el rol de l'isòmer 11-*cis* com a precursor dels diversos pigments visuals. Ruth Hubbard, amb la col·laboració de Robert St. George i Allen Kropf, va començar a estudiar quin era l'efecte de la llum sobre la rodopsina a escala molecular i va determinar que la fotoactivació consistia en la isomerització

de l'11-*cis*-retinal, unit a la rodopsina, a tot-*trans*-retinal, i que de resultes la rodopsina passava per una sèrie de canvis conformationals (Hubbard i St George 1958; Hubbard 1958; Hubbard, Brown i Kropf 1959).

A finals dels anys trenta, Selig Hecht havia determinat que n'hi havia prou amb un únic fotó per excitar un fotoreceptor i, per tant, hi havia d'haver un mecanisme que permetés l'amplificació del senyal a partir d'una molècula de pigment visual fotoactivada. L'any 1965, en un article publicat a la revista *Science*, George Wald va formular la hipòtesi que la molècula de rodopsina fotoactivada desencadenaria una cascada enzimàtica responsable de l'amplificació del senyal, similar a la cascada de reaccions enzimàtiques que es produïen en la coagulació sanguínia (Wald 1965). Les proteïnes que intervenen en les diverses etapes de la cascada de fototransducció predita per Wald van començar a ser identificades a partir dels anys vuitanta, poc després que Wald es jubilà. Al laboratori de Wald també s'hi van dur a terme experiments sobre els pigments visuals dels cons, que van servir per determinar que el cromòfor dels cons també era l'11-*cis*-retinal, i que per tant els diferents espectres d'absorció de les tres poblacions de cons havien de ser deguts a diferències en el component proteic, l'opsina, de cadascun dels pigments

visuals (Brown i Wald 1963, 1964; Wald 1964). L'any 1986, Nathans, Thomas i Hogness van determinar les bases moleculars de la visió en colors després d'identificar els tres gens que codifiquen cadascuna de les opsines dels cons (Nathans, Thomas i Hogness 1986).

George Wald també va ser dels primers que, al segle XX, va analitzar la funció de les cèl·lules fotoreceptores en patologies de la visió com la retinitis pigmentària i la ceguesa als colors (Wald i Zeavin 1956; Wald 1966). Per la seva contribució monumental al coneixement de les bases moleculars dels processos de fotorecepció, George Wald va ser distingit amb el Premi Nobel de Medicina i Fisiologia el 1967.

Glossari

ALUM POTÀSSIC: Sulfat doble d'alumini i de potassi hidratat. S'ha emprat per adobar pells, com a mordent en tints, en medicina com a astringent i en alimentació com a additiu.

EPITELI PIGMENTARI: Capa externa de la retina que separa els fotoreceptors de la part coriocapil·lar i de la làmina basal de la coroides. És el teixit que està en contacte directe amb els fotoreceptors, els nodreix i en recanvia els segments externs per fagocitosis, i intervé també en la regeneració del cromòfor visual.

FÒVEA: Petita depressió a la part central de la retina humana (la màcula), en la qual hi ha la concentració de cons més alta de tota la retina, i que és la zona de màxima agudeses visual.

SEGMENTS EXTERNES: Part apical de les cèl·lules fotoreceptores (bastons i cons) que conté tot un seguit d'invaginacions de la membrana plasmàtica o discos. A la membrana dels discos dels segments externs de bastons i cons hi trobem la majoria de les proteïnes que intervenen en la fototransducció.



© Chris Harman

Bibliografia

- Ball, S, Goodwin, TW and Morton, RA (1946). Retinene₁-vitamin A aldehyde. *J. Biochem.*
- Boll, F (1877). Zür Anatomie und Physiologie der Retina. *Arch. Anat. Physiol.* 4-35.
- Brown, PK and Wald, G (1963). Visual Pigments in Human and Monkey Retinas. *Nature* 200: 37-43.
- Brown, PK and Wald, G (1964). Visual Pigments in Single Rods and Cones of the Human Retina. Direct Measurements Reveal Mechanisms of Human Night and Color Vision. *Science* 144: 45-52.
- Drummond, JC (1920). The nomenclature of so-called accessory food factors (vitamins). *Biochem. J.* 14: 660-661.
- Evans, AB (1993). Optograms and fiction: photo in a dead man's eye. *Science-Fiction Studies* XX: 341-361.
- Fridericia, LS and Holm, E (1925). Experimental contribution to the study of the relation between night blindness and malnutrition. *Am. J. Physiol.* 73: 63-78.
- Hecht, S (1919). Sensory equilibrium and dark adaptation in *Mya arenaria*. *J. Gen. Physiol.* 545-558.
- Hubbard, R (1958). Bleaching of rhodopsin by light and by heat. *Nature* 181: 1126.
- Hubbard, R, Brown, PK and Kropf, A (1959). Vertebrate lumi- and meta-rhodopsins. *Nature* 183: 442-446.
- Hubbard, R and St George, RC (1958). The rhodopsin system of the squid. *J Gen Physiol* 41: 501-528.
- Hubbard, R and Wald, G (1949). The reduction of retinene₁ to vitamin A₁ in vitro. *J. Gen. Physiol.* 32: 367.
- Hubbard, R and Wald, G (1952). Cis-trans isomers of vitamin A and retinene in the rhodopsin system. *J Gen Physiol* 36: 269-315.
- Kühne, WF (1877). Zur Photochemie der Netzhaut. *Untersuchungen aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg* 14.
- Kühne, WF (1878). Über den sehpurpur. *Untersuchungen aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg*
- McCullum, EV and Davis, M (1913). The necessity of certain lipins in the diet during growth. *J. Biol. Chem.* 15: 167-175.
- McCullum, EV and Davis, M (1915). The nature of the dietary deficiencies of rice. *J. Biol. Chem.* 23: 181-230.
- Müller, R (1851). Zur Histologie der Netzhaut. *Z. Wiss. Zool.* 3: 234-237.
- Nathans, J and Hogness, DS (1984). Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 4851-4855.
- Nathans, J, Thomas, D and Hogness, DS (1986). Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments. *Science* 232: 193-202.
- Osborne, TB and Mendel, LB (1913). The relation of growth to the chemical constituents of the diet. *J. Biol. Chem.* 15: 167-175.
- Parinaud, M (1881). L'héméralopie et les fonctions du purpre visuel. *C. R. Seances Acad. Sci.* 93: 286-287.
- Rosenheim, O and Drummond, JC (1925). A delicate colour reaction for the presence of vitamin A. *Biochem. J.* 19: 753-756.
- Wald, G (1934). Carotenoids and the vitamin A cycle in vision. *Nature* 134: 65.
- Wald, G (1935a). Carotenoids and the visual cycle. *J. Gen. Physiol.* 19: 351-371.
- Wald, G (1935b). Vitamin A in eye tissues. *J. Gen. Physiol.* 18: 905-915.
- Wald, G (1939a). On the distribution of vitamins A₁ and A₂. *J. Gen. Physiol.* 22: 391.
- Wald, G (1939b). The porphyropsin visual system. *J. Gen. Physiol.* 22: 775.
- Wald, G (1953). Eye and Camera. *Scientific American Reader* 555-568.
- Wald, G (1964). The Receptors of Human Color Vision. *Science* 145: 1007-1016.
- Wald, G (1965). Visual excitation and blood clotting. *Science* 150: 1028-1030.
- Wald, G (1966). Defective color vision and its inheritance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 55: 1347-1363.
- Wald, G and Brown, PK (1950). The synthesis of rhodopsin from retinene₁. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 36: 84.
- Wald, G and Zeavin, BH (1956). Rod and cone vision in retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 42: 253-269.
- Wolf, G (2001). The discovery of the visual function of vitamin A. *J Nutr* 131: 1647-1650.
- Young, T (1802). The Bakerian lecture: on the theory of light and colours. *Phil. Trans. Roy. Soc. London* 92: 12-48.
- Yudkin, AM (1931). The pretense of vitamin A in the retina. *Arch. Ophthalmol.* 6: 510-517.

INFORMACIÓ I INSCRIPCIONS:

www.congressos.net

**DISSETÈ CONGRÉS
DE METGES I BIÒLEGS
DE LENGUA CATALANA**

Entitat convocant:



VALÈNCIA
28, 29 I 30 D'OCTUBRE, 2004
JARDÍ BOTÀNIC DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA