Marcio Roberto Octavio Gonçalves

**GTPases Rho em fotorreceptores da retina
de camundongos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração:
Biologia Celular e Tecidual

Orientadora:
Profa. Dra. Dânia Emi Hamassaki

SÃO PAULO

2009

RESUMO

Gonçalves MRG. *GTPases Rho em fotorreceptores da retina de camundongos* [dissertação]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2009.

Os fotorreceptores, cones e bastonetes, são neurônios sensoriais altamente especializados na detecção e transdução do estímulo luminoso em sinais elétricos. Estudos do nosso laboratório têm mostrado a presença e importância das *GTPases Rho* em células da retina de aves e mamíferos adultos, durante o desenvolvimento e na degeneração dos fotorreceptores induzida por luz. As *GTPases Rho*, proteínas *G* de baixo peso molecular, são ativadas por diversos sinais extracelulares capazes de alterar seu estado inativo (forma ligada ao GDP) em ativo (forma ligada ao GTP). Essas proteínas parecem regular diversos processos, tais como organização do citoesqueleto de actina, expressão gênica, migração celular, diferenciação e apoptose, entre outros. O objetivo deste projeto foi caracterizar de modo sistemático o padrão de distribuição de alguns membros dessa família (*Rac1*, *Cdc42* e *RhoA*) nos fotorreceptores da retina de camundongos BalbC por meio de imunocitoquímica. Os resultados mostraram que *Rac1*, *Cdc42* e *RhoA* são expressos nos fotorreceptores, principalmente no segmento interno e na camada plexiforme externa. Marcadores específicos para evidência da matriz entre os cones (PNA, peanut agglutinin) e bastonetes (WGA, wheat germ agglutinin) indicaram que as *GTPases* estão presentes nos dois tipos de células. A análise em microscopia eletrônica de transmissão mostrou a presença de *RhoA* no cílio conector. Além disso, tendo em vista que algumas moléculas envolvidas na fototransdução (ex: arrestina e transducina) migram de um segmento para outro durante a adaptação dos fotorreceptores às condições de luminosidade ambiental e esse processo parece dependente do arranjo do citoesqueleto, investigamos também se haveria translocação das *GTPases Rho* nessas diferentes condições. Diferentemente do que ocorreu com a transducina, não houve translocação das *GTPases Rho* em nenhuma das condições testadas (adaptação ao escuro e estimulação com luz por 5, 15, 30, 60 e 240 minutos e vice-versa). Sendo assim, nossos dados sugerem que as *GTPases Rho* possam desempenhar papéis importantes na reorganização do citoesqueleto, no processo de fototransdução e/ou processos degenerativos em fotorreceptores da retina de camundongos.

Palavras-chave: Retina. Fotorreceptores. Bastonetes. Cones.

ABSTRACT

Gonçalves MRG. Rho GTPases in photoreceptors of the mice retina [Master thesis]. Sao Paulo: Science Biomedical Institute of University of the Sao Paulo; 2009.

Cone and rod photoreceptors are sensorial neurons highly specialized on light detection and transduction into electric signals. Studies from our laboratory have shown the presence and the importance of Rho GTPases on adult avian and mammalian retinal cells, during development and in light-induced photoreceptors degeneration. Rho GTPases are low molecular weight proteins, which play a role in the signaling from extracellular stimulation to intracellular downstream effectors, cycling between an inactive guanosine diphosphate (GDP)-bound state and an active guanosine triphosphate (GTP)-bound state. Rho proteins regulate several processes, such as actin cytoskeleton organization, gene expression, cell migration, differentiation, and apoptosis, among others. The aim of the present project was to systematically characterize the distribution pattern of some members of this family (Rac1, Cdc42 and RhoA) in photoreceptors of the BalbC mouse retina using immunocytochemistry. Our results showed that Rac1, Cdc42 and RhoA were expressed by photoreceptors, mainly at the inner segment and outer plexiform layer. Specific markers that selectively bind to cone matrix domain (PNA, peanut agglutinin) and rod matrix domain (WGA, wheat germ agglutinin) indicated that Rho proteins were present in both cones and rods. Transmission electron microscopy showed the presence of RhoA at the connector cilium. In addition, considering that some phototransduction molecules (i.e. arrestin and transducin) migrate from one segment to another during photoreceptors adaptation to environmental light and that this process seems to be cytoskeleton-dependent, it was also investigated whether Rho GTPases would translocate in these different conditions. Unlike transducin, Rho GTPases did not undergo translocation in any tested condition (dark adaptation and light stimulation by 5, 15, 30, 60 and 240 minutes and vice-versa). Our data suggest that Rho GTPases may play important roles on cytoskeleton reorganization, phototransduction and/or degenerative processes in photoreceptors of the mouse retina.

Key words: Retina. Photoreceptors. Rods. Cones.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Retina

A retina, originária do ectoderma neural, possui uma arquitetura organizada na qual os corpos celulares estão dispostos histologicamente em três camadas nucleares morfológicamente distintas, intercalados por duas camadas plexiformes, nas quais ocorrem sinapses químicas e elétricas. A função principal da retina é processar e enviar informações sensoriais do sinal luminoso aos centros cerebrais superiores para o refinamento deste estímulo (Ramón e Cajal, 1893; Dowling, 1987).

A circuitaria e organização funcional são altamente complexas devido à capacidade de promover certo grau de modulação nos sinais neurais gerados a partir da imagem recebida. Isto ocorre através de uma diversidade de receptores e neuromediadores que possuem atuação concomitante (Marc *et al.*, 1990; Araki *et al.*, 1997; Fletcher *et al.*, 1998; Araki, 2000; Marc & Liu, 2000; Silveira dos Santos Bredariol, 2001; Da Silva *et al.*, 2008; Nakanishi *et al.*, 2009), o que torna a retina uma valiosa ferramenta de estudo do sistema nervoso central (SNC) e amplamente utilizada para avaliações morfológicas, neuroquímicas, fisiológicas e patológicas do sistema visual, graças à sua fácil localização, obtenção e manipulação.

1.1.2 Organização

O tecido retiniano possui uma organização característica em forma de lâmina e bem conservada ao longo da evolução dos vertebrados. Ao todo, são descritas dez camadas e a única região não sensorial consiste no epitélio pigmentar retiniano localizado na região mais externa, logo abaixo da coróide. Em seguida podem ser observadas: a camada dos fotorreceptores com seus segmentos externo e interno, a membrana limitante externa, camadas nuclear externa, plexiforme externa,

nuclear interna, plexiforme interna, de células ganglionares, de fibras nervosas e membrana limitante interna (Figura 1) (Polyak, 1941; Wässle e Boycott, 1991).

Antes de chegar ao segmento externo a luz atinge a córnea e atravessa toda a câmara anterior do olho, antes de ser absorvida pelos fotorreceptores, onde ocorre a fototransdução. Assim, a luz atravessa todas as camadas da retina e consecutivamente todas as suas células.

Figura 1. Esquema mostrando as camadas da retina. Modificado de Brash J.C., 1951.

1.1.3 Células

Aproximadamente 55 tipos celulares são descritos e classificados em cinco classes principais de neurônios, primeiramente descritas por Cajal (Ramón e Cajal, 1893). Estas células formam uma rede intrincada de conexões sinápticas: as células ganglionares, bipolares, os fotorreceptores - que participam da via de transmissão sináptica vertical e as células horizontais e amácrinas, que participam da interação lateral (Figura 2) (Masland, 2001).

Na retina dos vertebrados, os fotorreceptores recebem informações luminosas do ambiente e as projetam em direção às células bipolares e horizontais, que, por sua vez, enviam a informação visual para as células ganglionares.

Figura 2. Esquema de corte transversal da retina. Estão representados os tipos neurais presentes na retina. Modificado de <http://webvision.med.utah.edu>

A via de saída da informação visual da retina acontece através das células ganglionares, que apresentam grande diversidade morfológica. Seus axônios se organizam em feixes e compõem o nervo óptico e posteriormente, o quiasma e o trato óptico que encaminham impulsos nervosos para as áreas visuais (Fukuda *et al.*, 1982; Lam *et al.*, 1982).

As células horizontais, geralmente distribuídas em forma de mosaico e localizadas na margem externa da camada nuclear externa, comunicam-se através de sinapse elétrica. Estas células participam da modulação de respostas na primeira sinapse da retina entre as células fotorreceptoras e bipolares e entre elas próprias, fornecendo propriedades de antagonismo centro-periferia do campo receptor de células bipolares e também mudanças entre visão escotópica (noturna) e fotópica (diurna). Em algumas espécies já foi descrito células horizontais deslocadas na camada de células ganglionares e plexiforme interna, porém ainda não

se sabe qual a consequência desta morfologia (Ramón e Cajal, 1893; Prada *et al.*, 1984; Vaney, 1994).

As células bipolares são primariamente classificadas pelos padrões de estratificação de seus terminais axonais nos cinco estratos da camada plexiforme interna. Apresentam basicamente três tipos celulares funcionais: ON e OFF da via dos cones, e as da via dos bastonetes, dependendo da função, polaridade das respostas à luz, morfologia e laminação na camada plexiforme interna. As bipolares ON e OFF se despolarizam e hiperpolarizam respectivamente, em resposta à luz. Enquanto as bipolares dos bastonetes exibem respostas basicamente despolarizantes à luz. Apesar de apresentarem respostas do tipo centro-ON, não fazem contato direto com as ganglionares, mas com células amácrinas (Dowling, 1987; Kolb, 1994; Wässle e Boycott, 1991).

As células amácrinas também apresentam diversidades tanto morfológicas quanto de neurotransmissores, recebem aferências de células bipolares e de outras amácrinas e modulam a transmissão entre as células bipolares, outras amácrinas e células ganglionares. Assim, podem modificar os sinais visuais na segunda sinapse (Morgan, 1991).

Além dos neurônios na retina, células gliais também estão presentes, representadas predominantemente pelas células de Müller, radialmente dispostas ao longo de toda espessura. Os corpos destas células se localizam na camada nuclear interna e seus prolongamentos se estendem até a margem mais interna da retina, o que forma a membrana limitante interna e compõe uma barreira entre a retina neural e o humor vítreo (Unger *et al.*, 1998).

Por outro lado, na região mais distal da retina, os prolongamentos das células de Müller formam a membrana limitante externa que compõe uma barreira entre o espaço sub-retiniano, no qual os segmentos dos fotorreceptores estão em estreita associação com o epitélio pigmentar da retina. Embora estas células sejam consideradas o principal tipo glial na retina, astrócitos e células microgliais também

estão presentes, ainda que em menor quantidade (Guidry, 2005; Bringmann *et al.*, 2006).

Tendo em vista que o principal interesse deste trabalho são os fotorreceptores, eles serão descritos mais detalhadamente a seguir.

1.2 Fotorreceptores

Os fotorreceptores - cones e bastonetes - são neurônios sensoriais altamente diferenciados e polarizados que recebem os estímulos luminosos, ou seja, são sensibilizados pela luz, responsáveis por sua absorção e transdução em sinais elétricos. Possuem traços morfológicos únicos e são assim designados devido à sua morfologia. Ambos são divididos em 4 regiões principais: i) segmento externo (apical); ii) segmento interno; iii) pericário; e iv) terminação sináptica - basal, como demonstrado na figura 3 (Sterling *et al.*, 1988; Wu *et al.*, 2006; Slepak & Hurley 2008).

Figura 3. Diagrama que demonstra a organização básica da célula visual (bastonete) em vertebrados: segmento externo, segmento interno, cílio conector, regiões elipsóide e, mielóide, núcleo e terminal sináptico. Modificado de Young, 1976.

O segmento externo, que detecta o estímulo luminoso e realiza a transdução em sinal neural, é formado por discos membranosos achatados, empilhados e densamente empacotados. Estes discos possuem moléculas que absorvem a luz, os pigmentos visuais, que são renovados constantemente. A taxa de renovação dos discos é equivalente à sua taxa de destruição. Novos discos são formados na base do segmento externo e encaminhados até o topo durante um período de aproximadamente 10 dias, até serem fagocitados pelo epitélio pigmentado. Interligado ao segmento interno por um cílio conector estreito e móvel e imediatamente abaixo, situa-se o corpo basal do qual se origina o pedículo ciliar, composto por 9 pares de microtúbulos. Este se continua no segmento externo (Young, 1971).

O segmento interno possui um acúmulo de organelas, sendo um sítio funcional para metabolismo e síntese protéica, semelhante ao corpo celular de um neurônio, exceto pela grande abundância de mitocôndrias localizadas na região elipsóide que suprem a enorme necessidade energética dessas células. Este segmento se continua com o pericário, que aloja o núcleo e logo abaixo a terminação sináptica. O primeiro situa-se na camada nuclear externa, enquanto o segundo é constituinte da camada plexiforme externa (Giessel *et al.*, 2006).

As terminações pré-sinápticas são específicas para cada tipo celular e são especializadas na sua forma. Nos cones são denominadas pedículos: grandes e cônicos, com uma porção terminal achatada de 8-10 μm , dispondo-se paralelamente na camada plexiforme externa. Nos bastonetes são designadas esférulas e são pequenas porções alargadas da terminação dos axônios com cerca de 5 μm de diâmetro. As esférulas encontram-se agrupadas entre e acima dos pedículos dos cones. Ambas terminações fazem conexões com os interneurônios da camada nuclear interna, as células bipolares e horizontais (Lamb *et al.*, 2007).

O glutamato é o principal neurotransmissor na transdução do estímulo luminoso em estímulo neural. A liberação do glutamato é alta no escuro. Cones e bastonetes respondem à luz com hiperpolarização graduada, cuja liberação é diminuída nos terminais sinápticos da célula. Nestas estruturas se encontram as sinapses em fita (*ribbon*), preenchidas ao redor com pequenas vesículas sinápticas e compostas, em geral, por dendritos centrais provenientes de células bipolares e dois processos laterais de células horizontais (Euller e Wässle, 1995).

Independente do tipo celular e ao longo do processo evolutivo, os organismos desenvolveram uma diversa variedade de sistemas visuais, dependendo do tipo de ambiente, quantidade de luz incidente e quantidade de fótons disponíveis (Walls, 1942). Desta forma, a sensibilidade dos diferentes tipos de fotopigmentos encontrados nos fotorreceptores, com diferentes faixas de absorção (372 e 623 nm), pode variar dependendo dos pigmentos visuais de cada espécie animal (Wald, 1939b; Ohtsuka, 1984, 1985a).

Em roedores, caracterizados como dicromatas, ou seja, as sensibilidades espectrais para diferentes comprimentos de onda são detectados por somente dois tipos de cones, existem diferentes padrões de distribuição topográfica e ocorrência de fotorreceptores (Szél *et al.*, 1998). Especificamente nos camundongos, convencionalmente derivados de espécies noturnas, a incidência de cones é menor do que em espécies diurnas, podendo ser menor que 3 % (Jeon *et al.*, 1998) e 1% em ratos (Szél e Röhlich, 1992).

1.2.1 Cones

Os cones apresentam uma forma alongada e cônica, cujo segmento externo é composto por invaginações da membrana que formam discos membranosos contínuos com a membrana plasmática e operam em 10^1 a 10^5 lux (Wu *et al.*, 2006).

Presentes predominantemente na região central são responsáveis pela visão diurna ou em ambientes com alta intensidade de luz, devido à sensibilidade menor à luz e à atuação em altos níveis de luminosidade. Assim, a luz ativa os cones e resulta em maior acuidade visual quando comparados aos bastonetes. Fornecem melhor resolução de rápidas alterações da imagem visual (resolução temporal), percebem detalhes e medeiam a visão de cores, visto que possuem sensibilidade a diferentes faixas do espectro visual (Ahnelt *et al.*, 1987; Bowmaker, 1998) em razão dos seus fotopigmentos e gotículas de óleo.

A maioria dos mamíferos, tais como o camundongo, possui 2 tipos de fotopigmentos: opsina para cones e rodopsina para bastonete (Nathans, 1999). No entanto alguns peixes possuem 5 tipos diferentes de fotopigmentos. Esses constituem mais de 50% das proteínas estruturais destas membranas celulares (Bowmaker *et al.*, 1991; Hisatomi *et al.*, 1994, 1997).

Em geral, dependendo da sensibilidade a comprimentos de onda, três tipos distintos de cones são encontrados na retina de mamíferos: curto, médio e longo. A sensibilidade de maior absorção de luz situa-se nos 420 nm para os cones de comprimento de onda curto (cones azuis), 531 nm para os de comprimento de onda médio (cones verde) e 558 nm para os de comprimento de onda longo (cones vermelhos) (Marc e Sperling, 1977; De Monasterio *et al.*, 1981; Szél *et al.*, 1998). Enquanto isso, nas retinas de não-mamíferos podem ser observadas mais duas classes, os sensíveis a ultravioleta e os duplos. Todos com características bioquímicas diferentes, como a sensibilidades aos comprimentos de onda dependendo do tipo de gotícula de óleo presente (Raymond *et al.*, 1993; Cook, 1998).

A função destas gotículas ainda não está totalmente esclarecida, mas possivelmente atuam como um filtro do espectro de luz que chega ao fotopigmento e não são encontradas nos bastonetes (Kolb *et al.*, 2001).

1.2.2 Bastonetes

Os bastonetes são células alongadas e finas com segmento externo formado por discos membranosos empilhados, envolto por uma membrana celular contínua que se interrompe na base, cujo diâmetro é uniforme e similar ao segmento interno (Roof e Henser, 1982).

Ao contrário dos cones, os bastonetes e seu circuito neuronal medeiam a visão crepuscular ou noturna pelo fato de serem mais sensíveis à detecção de luz, entre 10^{-2} e 10^{-1} lux, quando os estímulos são fracos demais para estimular os cones; portanto, funcionam preferencialmente sob condições de baixa luminosidade. Possuem uma sensibilidade espectral maior para a luz azul-verde com um pico de sensibilidade localizada ao redor de 500 nm. A presença de um só tipo de bastonetes não é universal. Há répteis com dois tipos de bastonetes sensíveis respectivamente ao azul e ao verde (Walls, 1934; Liebman e Entire, 1968).

Normalmente, somente um tipo espectral de bastonete é encontrado na retina. Dependendo da espécie eles superam os cones em número, aproximadamente 20 para 1, o que não resulta em melhor resolução temporal. A grande sensibilidade dos bastonetes deve-se a uma enorme quantidade de pigmento (rodopsina), maior capacidade de amplificação de sinais luminosos e de haver maior convergência de bastonetes para uma célula ganglionar. Entretanto, a resposta dos bastonetes é mais lenta que a dos cones e o seu grau de convergência sobre as células ganglionares favorecem a participação dos bastonetes na visão noturna, mas resulta no sacrifício de uma boa acuidade visual no sistema de bastonetes (Wu *et al.*, 2006).

Sabe-se que peixes de grande profundidade desenvolveram retinas com bastonetes dominantes. Da mesma forma, animais terrestres noturnos também possuem o mesmo tipo de retina, enquanto vertebrados diurnos, normalmente têm retinas com mais cones do que bastonetes (Walls, 1942).

Como já descrito, apesar de cones e bastonetes apresentarem diferenças morfológicas e funcionais, o mecanismo de fototransdução é praticamente o mesmo.

1.3 Fototransdução

A fototransdução é o fenômeno de transmissão do sinal foto-químico envolvendo proteínas de membrana e sistemas de 2º mensageiros que influenciam a transmissão do potencial elétrico celular. Resumidamente, trata-se de um conjunto de proteínas reguladoras da transmissão do sinal e sua modulação intracelular, com diferentes variações conforme o meio, fotópico ou escotópico, onde a presença de corrente elétrica na membrana conduz à liberação do neurotransmissor.

O processamento visual se inicia com a conversão da luz em sinal elétrico através da absorção de um fóton de luz no segmento externo dos fotorreceptores, caracterizando o primeiro estágio da fototransdução. Esta conversão é semelhante para cones e bastonetes, apesar de o pigmento de absorção de luz ser diferente nos dois tipos de fotorreceptores, bem como a quantidade de luminosidade necessária para ativar estes receptores.

Em ambos os fotorreceptores, quando os fótons atingem os pigmentos ligados a discos membranosos se inicia a cascata de fototransdução pela ativação de um receptor acoplado a uma proteína G. Este receptor, o fotopigmento, está presente na membrana e é dividido em uma proteína transmembrana alfa hélice, associado covalentemente a um pequeno derivado da vitamina A, o 11 cis-retinal. Após absorção de luz, o 11 cis-retinal muda de configuração para trans-retinal e a molécula de rodopsina se modifica até chegar a metarrodopsina, que desencadeia uma série de eventos bioquímicos. A regeneração da rodopsina ocorre no EPR através da reisoneração à forma 11 cis-retinol e associação com a opsina (Saari, *et al.*, 1994; Wu *et al.*, 2006).

A metarrodopsina age sobre uma proteína *G*, a transducina, levando à troca de GDP por GTP e consequentemente ativação de uma fosfodiesterase. A fosfodiesterase hidroliza *GMPC*, diminuindo seus níveis intracelulares e levando ao fechamento de canais iônicos dependentes de *GMPC* presentes na membrana. Isso evita a entrada principalmente do íon Na^+ , ocasionando hiperpolarização e liberação de glutamato na terminação sináptica (Penn e Willians, 1986).

No escuro os fotorreceptores se encontram despolarizados graças a abertura de canais catiônicos dependentes de *GMPC*, provocando um influxo de íons principalmente de Na^+ e liberação de glutamato (Kolb, 1994; Nakanishi, 1995).

Pelo fato de os fotorreceptores serem constantemente expostos a diferentes intensidades de luz, eles têm a propriedade de se adaptarem excelentemente a novas condições de luminosidades através de múltiplos mecanismos regulatórios (Fain *et al.*, 2001). Um destes mecanismos, que podem contribuir para a regulação do desempenho dos fotorreceptores é a redistribuição de determinadas proteínas responsáveis pela transdução do sinal, localizadas nos compartimentos celulares (Sokolov *et al.*, 2002).

O sistema de fototransdução pode ser modulado por várias proteínas, tais como transducina, arrestina, recoverina, fosducina, calmodulina e proteína ativadora de guanilato ciclase (Fain *et al.*, 2001). A localização de algumas destas proteínas nos segmentos dos fotorreceptores é dependente de luz e se mantém em compartimentos opostos, devido a mudanças, conhecidas como translocação.

1.4 Translocação

Nem todos os mecanismos funcionais que ocorrem nos segmentos externo e interno dos fotorreceptores estão totalmente esclarecidos, um deles é a translocação bidirecional de proteínas nestes segmentos induzidas por luz, onde

alguns componentes transitam rapidamente entre os dois compartimentos (Sokolov *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003).

A translocação é um mecanismo celular que regula a sensibilidade dos fotorreceptores e que foi descrita inicialmente na década de 80 por diversos grupos (Brann e Cohen, 1987; Whelan e McGinnis, 1988; Philp *et al.*, 1987). Devido a sua importância no processamento visual, vem sendo muito estudada atualmente (Böhner *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2003; Elias *et al.*, 2004; Strissel *et al.*, 2005; Calvert *et al.*, 2006; Karan *et al.*, 2007).

As funções do segmento externo e segmento interno nos fotorreceptores ainda não estão totalmente esclarecidas devido à translocação bidirecional de proteínas nos segmentos induzidas por luz, onde alguns componentes transitam rapidamente entre os dois compartimentos (Sokolov *et al.*, 2002). Esta translocação está relacionada a um mecanismo evolucionário de adaptação que ocorre em invertebrados e vertebrados (Lee *et al.*, 2003).

Uma translocação significativa ocorre apenas quando a intensidade de luz excede um nível crítico de limiar. As proteínas mais descritas na literatura envolvidas neste processo são: a arrestina, que inibe o fotopigmento ativado e a transducina que medeia a fototransdução da rodopsina até a fosfodiesterase.

Em retinas adaptadas ao escuro, a transducina se localiza no externo e a arrestina no interno. Em resposta à luz, elas translocam rapidamente, invertendo suas posições (Papermaster, 2002).

1.4.1 Arrestina

A classe de proteínas conhecida como arrestina está envolvida na inativação de muitas proteínas G acopladas a receptores em sistema de cascata (McDonald e Lefkowitz, 2001). A arrestina visual é uma proteína citoplasmática encontrada em fotorreceptores e é conhecida por extinguir a fototransdução pelo bloqueio da

interação da rodopsina ativada com a proteína *G*, transducina. Na última década estudos com técnicas de imuno-histoquímica tem mostrado a presença da arrestina no segmento interno no escuro e migração para o SE em resposta à luz (Whelan e McGinnis, 1988).

O término do sinal luminoso requer que a rodopsina ativada pela luz seja desativada pela incorporação de múltiplos fosfatos no terminal C da rodopsina kinase. A alta afinidade da arrestina ligante para rodopsina fotolizada fosforilada previne uma interação com a transducina, bloqueando o sinal (Mendez *et al.*, 2003).

Particularmente intrigante é o fato de outra proteína, a transducina, migrar em direção oposta sob as mesmas condições de luz (Sokolov *et al.*, 2002).

1.4.2 Transducina

A transducina é uma proteína heterotrimérica, constituída de 3 polipeptídeos distintos: subunidades α , β e γ que medeiam a fototransdução entre a rodopsina fotolizada e a fosfodiesterase nos vertebrados. Considerada uma proteína *G*, suas subunidades " α " ligam-se ao nucleotídeo guanina com alta afinidade e especificidade, interagem com os receptores, efetores, complexo $\beta\gamma$ e possuem atividade intrínseca de GTPase (Birnbaumer, 1992).

Semelhante à arrestina, exceto pela localização e pela separação em subunidades, a transducina também é uma das proteínas que apresentam cinética temporal da translocação, após a ativação por foto excitação da rodopsina (Elias *et al.*, 2004).

A luz causa translocação maciça da transducina do segmento externo sensível a luz nos bastonetes (Lobanova *et al.*, 2007) para o segmento interno. Em retinas adaptadas ao claro, a transducina se encontra no segmento externo. Em resposta à luz ocorre uma translação em direção oposta, indo para o segmento interno no escuro. Este movimento fisiológico da transducina ocorre em diferentes

intensidade de luz, nas quais os bastonetes podem funcionar (Sokolov *et al.*, 2002). Em outras palavras, em resposta à luz a transducina é redistribuída nos bastonetes se submetendo à translocação depois de ser ativada por fotoexcitação da rodopsina (Whelan e McGinnis, 1988).

Embora não se sabe exatamente como ocorre a distribuição e redistribuição destas proteínas nos segmentos, alguns autores sugerem que esses processos sejam dependentes do citoesqueleto (Peterson *et al.*, 2005).

1.5 GTPases Rho

Dentre os diversos reguladores do citoesqueleto, destaca-se uma importante família de GTPases, as GTPases Rho, que em muitos tipos celulares estão relacionadas com a regulação do citoesqueleto, através da organização dos filamentos de actina (Hall, 1998; Hakeda-Suzuki *et al.*, 2002) e também pela interação com microtúbulos (Wittman *et al.*, 2003).

Além de regular o citoesqueleto, as GTPases Rho interagem com diferentes efetores e regulam outros processos celulares biológicos, como expressão gênica, transporte vesicular, migração celular, diferenciação, apoptose, ciclo celular, polaridade e sobrevivência celular, por exemplo (Aspenstrom *et al.*, 2004; Govek *et al.*, 2005; Jaffe e Hall, 2005; Bustelo *et al.*, 2007).

Estas proteínas possuem baixo peso molecular 20-30 kDa e alternam entre um estado inativo ligadas ao GDP e um ativo ligadas ao GTP (Etienne-Manneville e Hall, 2002). Dois tipos principais de proteínas regulam este ciclo, os GEFs (guanine nucleotide-exchange factors), que promovem a troca da molécula de GDP para GTP e os GAPs (GTPase-activating protein) que promovem a hidrólise da molécula de GTP. Quando inativas, as GTPases Rho formam um complexo citoplasmático com proteínas inibidoras da dissociação de nucleotídeos de guanina (GDIs), das quais se dissociam para serem estimuladas pelos GEFs. Quando ativadas, graças a uma

isoprenilação na porção carboxi-terminal, translocam-se para a membrana, onde interagem com diferentes proteínas efetoras. Desta forma, promove a interação entre os estímulos extracelulares com seus efetores intracelulares para controlar diversos eventos moleculares (Figura 4) (Bishop e Hall, 2000; Tanaka e Takai, 1998).

Figura 4 - Ciclo de ativação das GTPases Rho. GEFs catalizam a ativação das GTPases através da troca de GDP para GTP, permitindo sua ligação a diferentes efetores para promover suas funções. GAPs promovem a hidrólise do GTP, inativando a proteína nisso GDI sequestram as GTPases do citoplasma (Ridley e Vega, 2008).

Pertencentes à super-família de proteínas Ras, estas GTPases estão divididas entre 6 sub-famílias: Rho, Rac, Cdc42, Rnd, RhoBTB e Rho/Miro. Atualmente mais de 20 membros desta família já foram descritos no entanto, as proteínas RhoA (*Ras homologous member A*), Rac1 (*Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*) e Cdc42 (*Cell division cycle 42*) são as mais estudadas em diferentes tipos celulares e amplamente distribuídas. Todas possuem funções específicas na formação de processos celulares relacionados com a motilidade, além de outros papéis intensamente investigados. Na retina, estudos do laboratório e de outros grupos têm mostrado que estas proteínas estão distribuídas durante o desenvolvimento nos neurônios e células gliais, podem atuar em momentos distintos, desempenhando

papéis específicos (Santos-Bredariol *et al.*, 2002, 2006; Takai *et al.*, 2001; Bishop e Hall, 2000).

Atualmente se compreende um pouco mais sobre os papéis das Rho GTPases, devido a estudos com organismos mutantes e também pela super expressão em linhagens celulares com dominantes negativo e constitutivamente ativo que estimulam ou inibem a sinalização para as GTPases. A geração de camundongos nocaute também tem proporcionado novas ferramentas para analisar e estudar a função destas GTPases, inclusive *in vivo*. O desenvolvimento recente de animais nocautes para Cdc42 e Rac1 foi particularmente importante, visto que o nocaute completo destas proteínas é letal no início de embriogênese (Ridley *et al.*, 2008).

Desta forma, alguns estudos têm demonstrado a importância do bom funcionamento do citoesqueleto nos fotorreceptores e que alterações em seus componentes podem levar à degeneração da retina e até a cegueira (Liu *et al.*, 1999; Wolfrum e Schmitt, 2000; Lin-Jones *et al.*, 2003).

6 CONCLUSÃO

Os experimentos mostraram que todas as GTPases Rho estudadas, Rac 1, Cdc42 e RhoA estão presentes nos fotorreceptores cones e bastonetes, principalmente no segmento interno e na terminação sináptica. Alterações significativas entre as GTPases foram encontradas, onde foi observado Cdc42 mais expressa em cones e RhoA na região do cílio conector.

Em condições diferentes de estimulação por luz não ocorreu translocação das GTPases Rho semelhante ao padrão demonstrado por transducina. Porém, sua presença em fotorreceptores sugere que elas possam desempenhar papéis importantes, seja, envolvidas na reorganização do citoesqueleto ou no processo de fototransdução, regulando outras proteínas e/ou protegendo contra danos induzidos pela luz.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahnelt PK, Kolb H, Pflug R. Identification of a subtype of cone photoreceptor, likely to be blue sensitive, in the human retina. *J Comp Neurol*. 1987; 255: 18-34.

Ansley, SJ, Badano JL, Blacque OE, Hill J, Hoskins BE, Leitch CC, Kim JC, Ross AJ, Eichers ER, Teslovich TM. Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet-Biedl syndrome. *Nature*. 2003; 425: 628-633.

Araki CM, Pires RS, Britto LR, Lindstrom JM, Karten HJ, Hamassaki-Britto DE. Differential co-localization of nicotinic acetylcholine receptor subunits with calcium-binding proteins in retinal ganglion cells. *Brain Res*. 1997;774(1-2):250-5.

Araki CM, Hamassaki-Britto DE. Calretinin co-localizes with the NMDA receptor subunit NR1 in cholinergic amacrine cells of the rat retina. *Brain Res*. 2000;869(1-2):220-4.

Aspenström P. Integration of signalling pathways regulated by small GTPases and calcium. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1742(1-3):51-8.

Aspenström P, Fransson A, Saras J. Rho GTPases have diverse effects on the organization of the actin filament system. *Biochem J*. 2004;377: 327-337.

Bähner M, Flechter S, Da Silva N, Minke B, Paulsen R, Huber A. Light-regulated subcellular translocation of *Drosophila* TRPL channels induces long-term adaptation and modifies the light-induced current. *Neuron*. 2002;34(1):83-93.

Balasubramanian N, Slepak VZ. Light-mediated activation of Rac-1 in photoreceptor outer segments. *Curr Biol*. 2003;13(15):1306-10.

Belmonte MA, Santos MF, Kihara AH, Chao YI, Hamassaki DE. Light-Induced photoreceptor degeneration in the mouse involve activation of the small GTPase Rac 1. *IOVS*. 2006;47(3):1193-200.

Beech PL, Pagh-Roehl K, Noda Y, Hirokawa N, Burnside B, Rosenbaum JL. Localization of kinesin superfamily proteins to the connecting cilium of fish photoreceptors. *J Cell Sci*. 1996;109(4):889-97.

Besharse JC, Baker SA, Luby-Phelps K, Pazour, GJ. Photoreceptor intersegmental transport and retinal degeneration: A conserved pathway common to motile and sensory cilia. *Adv Exp Med Biol*. 2003;533:157-164.

De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical Journal: sample references. C2003- Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Birnbaumer L. Receptor-to-effector signaling through G proteins: roles for beta gamma dimers as well as alpha subunits. *Cell*. 1992;71(7):1069-72.

Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J*. 2000; 348: 241-255.

Bowmaker JK, Thorpe A, Douglas RH. Ultraviolet-sensitive cones in the goldfish. *Vision Res*. 1991; 31: 349-352.

Bowmaker JK. Evolution of colour vision in vertebrates. *Eye*. 1998;12:541-547.

Boureux A, Vignal E, Faure S, Fort P. Evolution of the Rho family of ras-like GTPases in eukaryotes. *Mol Biol Evol*. 2007;24(1):203-16

Brann MR, Cohen LV. Diurnal expression of transducin mRNA and translocation of transducin in rods of rat retina. *Science*. 1987;235(4788):585-7.

Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, Osborne NN, Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res*. 2006;25(4):397-424.

Bustelo XR, Sauzeau V, Berenjeno. GTP-binding proteins of the Rho/Rac family: regulation, effectors and function in vivo. *Bioessays*. 2007;29:356-370.

Calvert PD, Krasnoperova NV, Lyubarsky AL, Isayama T, Nicolás M, Kosaras B, Wong G, Gannon KS, Margolskee RF, Sidman RL, Pugh EN Jr, Makino CL, Lem J. Phototransduction in transgenic mice after targeted deletion of the rod transducin alpha -subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(25):13913-13918.

Calvert PD, Strissel KJ, Schiesser WE, Pugh EN Jr, Arshavsky VY. Light-driven translocation of signaling proteins in vertebrate photoreceptors. *Trends Cell Biol*. 2006; 16(11):560-8.

Coleman JE, Semple-Rowland SL. GC1 deletion prevents light-dependent arrestin translocation in mouse cone photoreceptor cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005 Jan;46(1):12-6.

Da Silva N, Herron CE, Stevens K, Jollimore CA, Barnes S, Kelly ME. Metabotropic receptor-activated calcium increases and store-operated calcium influx in mouse Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(7):3065-73.

De Monasterio FM, Schein SJ, McCrane EP. Staining of blue sensitive cone of the Macaque retina by fluorescent dye. *Science*. 1981;213:1278-1281.

Deretic D, Traverso V, Parkins N, Jackson F, Turco EBR, Ransom N. Phosphoinositides, Ezrin/ Moesin and Rac 1 regulate fusion of rhodopsin transport carriers in retinal photoreceptors. *Mol Biol Cell*. 2004;276(25):23000-8.

Donovan M, Carmody RJ, Cotter TG. Light-induced photoreceptor apoptosis in vivo requires neuronal nitric-oxide synthase and guanylate cyclase activity and is caspase-3-independent. *J Biol Chem*. 2001;276(25):23000-8.

Dowling JE. The retina: an approachable part of the brain. Cambridge: Harvard university; 1987.

Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature*. 2002;420:629-635.

Euller T, Wassle H. Immunocytochemical identification of cone bipolar cells in the rat retina. *J Comp Neurol*. 1995;365:461-78.

Elias RV, Sezate SS, Cao W, McGinnis JF. Temporal kinetics of the light/dark translocation and compartmentation of arrestin and alpha-transducin in mouse photoreceptor cells. *Mol Vis*. 2004;15(10):672-81.

Fain GL, Matthews HR, Cornwall MC, Koutalos Y. Adaptation in vertebrate photoreceptors. 2001. *Physiol Rev*. 2001. Jan;81(1):117-151.

Fain GL. Why photoreceptors die (and why they don't). *Bioessays*. 2006;28(4):344-54.

Fletcher EL, Koulen P, Wässle H. GABAA and GABAC receptors on mammalian rod bipolar cells. *J Comp Neurol*. 1998;396(3):351-65.

Fukuda Y, Sugimoto T, Shirokawa T. Strain differences in quantitative analysis of the rat optic nerve. *Exp Neurol*. 1982;7(2):525-32.

Giessel A, Trojan P, Rausch S, Pulvermüller A, Wolfrum U. Centrins, gatekeepers for the light-dependent translocation of transducin through the photoreceptor cell connecting cilium. *Vision Res*. 2006;46(27):4502-9.

Govek EE, Newey SE, Van Aelst L. The role of the Rho GTPases in neuronal development. *Genes Dev*. 2005; 19(1):1-49.

Guidry C. The role of Müller cells in fibrocontractive retinal disorders. *Prog Retin Eye Res*. 2005;24(1):75-86.

Hakeda-Suzuki S, Ng J, Tzu J, Dietzl G, Sun Y, Harms M, Nardine T, Luo L, Dickson BJ. Rac function and regulation during *Drosophila* development. *Nature*. 2002;416:438-442.

Hall, A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science*. 1998;(27):9509-514.

He S, Parapuram SK, Hurd TW, Behnam B, Margolis B, Swaroop A, Khanna H. Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator (RPGR) protein isoforms in mammalian retina: insights into X-linked Retinitis Pigmentosa and associated ciliopathies. *Vision Res.* 2008;48(3):366-76.

Hisatomi O, Kayada Y, Aoki T, Iwasa F, Tokunaga. Phylogenetic relationships among vertebrates visual pigments. *Vision Res.* 1994;34:3097-3102.

Hisatomi O, Satoh T, Tokunaga F. The primary structure and distribution of killifish visual pigments. *Vision Res.* 1997;37:3089-3096.

Jaffe AB, Hall A. Rho GTPases: biochemistry and biology. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005;21:247-69.

Jeon CJ, Strettoi E, Masland RH. The major cell populations of the mouse retina. *J Neurosci.* 1998; 18(21):8936-46

Johnson LV, Hageman GS. Structural and compositional analyses of isolated cone matrix sheaths. Structural and compositional analyses of isolated cone matrix sheaths. *IOVS.* 1991; 32(7):1951-7.

Karnovisk MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1965;27:137.

Karan S, Zhang H, Li S, Frederick JM, Baehr W. A model for transport of membrane-associated phototransduction polypeptides in rod and cone photoreceptor inner segments. *Vision Res.* 2008;48(3):442-52.

Kawano K, Uehara F, Sameshima M, Ohba N. Binding sites of peanut agglutinin in mammalian retina. *Jpn J Ophthalmol.* 1984;28(3):205-14

Kerov V, Chen D, Moussaif M, Chen YJ, Chen CK, Artemyev NO. Transducin activation state controls its light-dependent translocation in rod photoreceptors. *J Biol Chem.* 2005;280(49):41069-76.

Knox BE, Solessio E. Shedding light on cones. *J Gen Physiol.* 2006;127:355-358.

Kolb H. The architecture of functional neural circuits in the vertebrate retina. *IOVS.* 1994;35(5):2385-2404.

Kolb H, Nelson R, Ahnelt P, Cuenca N. Cellular organization of the vertebrate retina. *Prog Brain Res.* 2001;131:3-26.

Lam K, Sefton AJ, Bennett MR. Loss of axons from the optic nerve of the rat during early postnatal development. *Brain Res.* 1982;255(3):487-91.

Lee SJ, Xu H, Kang LW, Amzel LM, Montell C. Light adaptation through phosphoinositide-regulated translocation of *Drosophila* visual arrestin. *Neuron* . 2003;39:121-132.

Lee SJ, Montell C. Suppression of constant-light-induced blindness but not retinal degeneration by inhibition of the rhodopsin degradation pathway. *Curr Biol*. 2004; 14(23):2076-85.

Liebman PA, Entire G. Visual pigments from frog and tadpole (*Rana pipiens*). *Vision Res*. 1968;8:761-775.

Lin-Jones J, Parker E, Wu M, Knox BE, Burnside B. Disruption of kinesin II function using a dominant negative-acting transgene in *Xenopus laevis* rods results in photoreceptor degeneration. *Invest Ophthalmol Visual Sci*. 2003;44:3614-3621.

Liu X, Udovichenko IP, Brown SD, Steel KP, Williams D.S. Myosin VIIA participates in opsin transport through the photoreceptor cilium. *J Neurosci* 1999;6267-6274.

Liu Q, Tan G, Levenkova N, Li T, Pugh EN Jr, Rux J. The proteome of the mouse photoreceptor sensory cilium complex. *Mol Cell Proteomics*. 2007. M700054-MCP200.

Lobanova ES, Finkelstein S, Song H, Tsang SH, Chen CK, Sokolov M, Skiba NP, Arshavsky VY. Transducin translocation in rods is triggered by saturation of the GTPase-activating complex. *J Neurosci*. 2007;27(5):1151-60.

Marc RE, Sperling HG. Chromatic organization of the primate's cones. *Science*. 1977;196:454-456.

Marc RE, Liu WL, Kalloniatis M, Raiguel SF, Van Haesendonck E. Patterns of glutamate immunoreactivity in the goldfish retina. *J Neurosci*. 1990;10(12) 4006-34.

Marc RE, Liu W. Fundamental GABAergic amacrine cell circuitries in the retina: nested feedback, concatenated inhibition, and axosomatic synapses. *J Comp Neurol*. 2000;425(4):560-82.

Mavlyutov TA, Zhao H, Ferreira PA. Species-specific subcellular localization of RPGR and RPGRIP isoforms: implications for the phenotypic variability of congenital retinopathies among species. *Hum Mol Genet*. 2002;11(16):1899-907.

Masland RH. The fundamental plan of the retina. *Nat Neurosci*. 2001;4(9):877-86.

Marszalek JR, Liu X, Roberts EA, Chui D, Marth JD, Williams DS, Goldstein LS. Genetic evidence for selective transport of opsin and arrestin by kinesin-II in mammalian photoreceptors. *Cell*. 2000;102(2):175-87.

McDonald PH, Lefkowitz RJ. Beta-Arrestins: new roles in regulating heptahelical receptors' functions. *Cell Signal*. 2001;13(10):683-9.

Mieziowska KE, van Veen T, Murray JM, Aguirre GD. Rod and cone specific domains in the interphotoreceptor matrix. *J Comp Neurol*. 1991;308(3):371-80.

Mendez A, Lem J, Simon M, Chen J. Light-dependent translocation of arrestin in the absence of rhodopsin phosphorylation and transducin signaling. *J Neurosci*. 2003;23(8):3124-9.

Mendez A, Lem J, Simon M, Chen J.: Light-dependent translocation of arrestin in the absence of rhodopsin phosphorylation and transducin signaling. *J Neurosci*. 2003;23(8):3124-9.

Miller AM, Ramirez T, Zuniga FI, Ochoa GH, Gray S, Kelly SD, Matsumoto B, Robles LJ. Rho GTPases regulate rhabdom morphology in octopus photoreceptors. *Vis Neurosci*. 2005;22(3):295-304.

Mollon JD, Polden PG. Saturation of a retinal cone mechanism. *Nature*. 1977;265:243-246.

Morgan IG. What do amacrine cells do? *Prog Retin Eye Res*. 1991;11:193-214.

Nakanishi S. Second-order neurons and receptor mechanisms in visual and olfactory information processing. *Trends Neurosci*. 1995;18:359-384.

Nakanishi N, Tu S, Shin Y, Cui J, Kurokawa T, Zhang D, Chen HS, Tong G, Lipton SA.: Neuroprotection by the NR3A subunit of the NMDA receptor. *J Neurosci*. 2009;29(16):5260-5.

Nathans J. The evolution and physiology of human color vision: insights from molecular genetic studies of visual pigments. *Neuron*. 1999;24(2):299-312.

Ohtsuka T. Relation of spectral types to oil droplets in cones of turtle retina. *Science*. 1985a;229:874-877.

Ohtsuka T. Fluorescence from colorless oil droplets: a new criterion for identification of cones photoreceptors. *Neurosci Lett*. 1984;52:241-245.

Papermaster DS. The birth and death of photoreceptors: the Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(5):1300-9.

Peterson JJ, Orisme W, Fellows J, McDowell JH, Shelamer CL, Dugger DR, Smith WC. A role for cytoskeletal elements in the light-driven translocation of proteins in rod photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(11):3988-98.

- Penn JS, Williams TP. Photostasis: regulation of daily photon-catch by rat retinas in response to various cyclic illuminances. *Exp Eye Res.* 1986;43(6):915-28.
- Philp NJ, Chang W, Long K. Light-stimulated protein movement in rod photoreceptor cells of the rat retina. *FEBS Lett.* 1987;225(1-2):127-32.
- Prada FA, Armengol JA, Genis-Galvez JM. Displaced horizontal cells in the chick retina. *J. Morphol.* 1984;182(2):221-5.
- Polyak SL. The retina. Chicago-Illinois: The university of Chicago Press; 1941.
- Ramon e Cajal S R. La rétine des vertébrés. *La Cellule.* 1893;9:17-257.
- Raymond P A, Barthel IK, Rounsifer, ME, Sullivan SA, Knight JK. Expression of rod and cone visual pigments in goldfish and zebrafish: A rhodopsin-like gene is expressed in cones. *Neuron.* 1993;10:1161-1174.
- Ridley AJ. Rho GTPases and actin dynamics in membrane protrusions and vesicle trafficking. *Trends Cell Biol.* 2006;16:522-529.
- Ridley A, Vega MV. Rho GTPases in cancer. *FEBS Letters.* 2008;582:2093-2101.
- Rivero F, Dislich H, Glockner G, Noegel AA. The Dictyostelium discoideum family of Rho-related proteins. *Nucleic Acids Res.* 2001;29:1068-1079.
- Roof DJ, Henser JE. Surface of photoreceptor disk membrane components. *J Cell Biol.* 1982;95:487-500.
- Rosenbaum JL, Cole D G, Diener D R. Intraflagellar transport: The eyes have it. *J Cell Biol.* 1999;144:385-388.
- Rosenbaum JL, Witman GB. Intraflagellar transport. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 Nov;3(11):813-25.
- Rosenbaum JL. Intraflagellar transport. *Curr Biol.* 2002;12;R125.
- Saari JC, Bredberg DL, Noy N. Control of substrate flow at a branch in the visual cycle. *Biochemistry.* 1994;33(10):3106-12.
- Santos-Bredariol AS, Santos MF, Hamassaki-Britto DE. Distribution of the small molecular weight GTP-binding proteins Rac1, Cdc42, RhoA and RhoB in the developing chick retina. *J Neurocytol* 2002;2:149-159.

Santos-Bredariol AS, Belmonte MA, Kihara AH, Santos MF, Hamassaki DE. Small GTP-binding protein RhoB is expressed in glial Müller cells in the vertebrate retina. *J Comp Neurol*. 2006;494(6):976-85.

Swaminathan, S. Human disease: the centrosome connection. *Nat Cell Biol*;6:383.

Shu X, Fry AM, Tulloch B, Manson FD, Crabb JW, Khanna H, Faragher AJ, Lennon A, He S, Trojan P, Giessl A, Wolfrum U, Vervoort R, Swaroop A, Wright AF. RPGR ORF15 isoform co-localizes with RPGRIP1 at centrioles and basal bodies and interacts with nucleophosmin. *Hum Mol Genet*. 2005;14(9):1183-97.

Silveira dos Santos Bredariol A, Hamassaki-Britto DE. Iontropic glutamate receptors during the development of the chick retina. *J Comp Neurol*. 2001 Dec 3; 441(1):58-70.

Singla V, Reiter JF. The primary cilium as the cell's antenna: Signaling at a sensory organelle. *Science*. 2006;313:629-633.

Slepak VZ, Hurley JB. Mechanism of light-induced translocation of arrestin and transducin in photoreceptors: interaction-restricted diffusion. *IUBMB Life*. 2008;60(1):2-9.

Sokolov M, Lyubarsky AL, Strissel KJ, Savchenko AB, Govardovskii VI, Pugh Jr. EN, Arshavsky VY. Massive light-driven translocation of transducin between the two major compartments of rod cells: a novel mechanism of light adaptation. *Neuron*. 2002;34:95-106.

Strissel KJ. Light-dependent translocation of signaling proteins in vertebrate and invertebrate photoreceptors. *Recent adv hum biol*. p163-193.

Strissel KJ, Lishko PV, Trieu LH, Kennedy MJ, Hurley JB, Arshavsky VY. Recoverin undergoes light-dependent intracellular translocation in rod photoreceptors. *J Biol Chem*. 2005;280:29250-29255.

Szél A, Röhlich P. Two cone types of rat retina detected by anti-visual pigment antibodies. *Exp Eye Res*. 1992;55(1):47-52.

Szél A, Diamanstein T, Rohlich P. Identification of blue-sensitive cones in the mammalian retina by antvisual pigment antibody. *J Comp Neurol*. 1998;273, 593-602.

Sterling P, Freed MA, Smith RG. Architecture of rod and cone circuits to the on-beta ganglion cell. *J Neurosci*. 1988;8(2):623-42.

Tanaka K, Takai Y. Control of reorganization of the actin cytoskeleton by Rho family small GTP-binding proteins in yeast. *Curr Opin Cell Biol*. 1998; 10:112-116.

- Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev.* 2001; 81(1):153-208.
- Unger JW, Klitzsch T, Pera S, Reiter R. Nerve growth factor (NGF) and diabetic neuropathy in the rat: morphological investigations of the sural nerve, dorsal root ganglion, and spinal cord. *Exp Neurol.* 1998;153:23-34.
- Van der Spuy J, Munro PMG, Luthert PJ, Preising MN, Bek T, Heegaard S, Cheetham ME. Predominant rod photoreceptor degeneration in Leber congenital Amaurosis. *Mol Vision.* 2005;11:542-53.
- Vaney DI. Patterns of neuronal coupling in the retina. *Prog Ret Res.* 1994;13(1) 301-355.
- Valster AH, Hepler PK, Chernoff J. Plant GTPases: the Rhos in bloom. *Trends Cell Biol.* 2000;10:141-146.
- Yang Z, Peachey NS, Moshfeghi DM, Thirumalaichary S, Chorich L, Shugart YY, Fan K, Zhang K. Mutations in the RPGR gene cause X-linked cone dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2002;11:605-611.
- Yoon J, Ben-Ami HC, Hong YS, Park S, Strong LL, Bowman J, Geng C, Baek K, Minke B, Pak WL. Novel mechanism of massive photoreceptor degeneration caused by mutations in the *trp* gene of *Drosophila*. *J Neurosci.* 2000;20(2):649-59.
- Young RW, Droz B. The renewal of protein in retinal rods and cones. *J Cell Biol.* 1968;(39)169-184.
- Young RW. Shedding of discs from rod outer segments in the rhesus monkey. *J Ultrastruct Res.* 1971;34(1):190-203.
- Young RW. Visual cells and the concept of renewal. *Invest Ophthalmol.* 1976;15(9):700-25.
- Wald G. The porphyropsin visual system. *J Gen Physiol.* 1939;(22):775-94.
- Walls GL. The reptilian retina. *Am J Ophthalmol.* 1934; 17: 892-915.
- Walls GL. The visual process. B-Photopic vision. In: *The vertebrate eye and its adaptative radiation*. Bloomfield Hills: Cranbrook Institute of Science. 1942:81-100.
- Wässle H, Boycott BB. Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol Rev.* 1991;71(2):447-80.
- Wheler AP, Ridley AJ. Why three Rho proteins? RhoA, RhoB, RhoC, and cell motility. *Exp Cell Res.* 2004;301:43-49.

Whelan JP, McGinnis JF. Light-dependent subcellular movement of photoreceptor proteins. *J Neurosci Res*. 1988;20(2):263-70.

Wittmann T, Bokock GM e Waterman-Storer CM. Regulation of leading edge microtubule and actin dynamics downstream of Rac1. *J Cell Biol*. 2003;161:845-51.

Wolfrum U, Schmitt A. Rhodopsin transport in the membrane of the connecting cilium of mammalian photoreceptor cells. *Cell Motility Cytoskeleton*. 2000; 46, 95-107.

Wu Q, Chen C, Koutalos Y. All-trans retinol in rod photoreceptor outer segments moves unrestrictedly by passive diffusion. *Biophys J*. 2006;91(12):4678-89.

Wu J, Seregard S, Algvere PV. Photochemical damage of the retina. *Surv Ophthalmol*. 2006;51(5):461-81.

Zhang J, Kleinschmidt J, Sun P, Witkovsky P. Identification of cone classes in *Xenopus* retina by immunocytochemistry and staining with lectins and vital dyes. *Vis Neurosci*. 1994;11(6):1185-92.

Zhang H, Huang W, Zhang H, Zhu X, Craft CM, Baehr W, Chen CK. Light-dependent redistribution of visual arrestins and transducin subunits in mice with defective phototransduction. *Mol Vis*. 2003;9:231-7.