

Potencial receptor precoce no eletrorretinograma da *Sula leucogaster*

Adalmir Morterá Dantas¹; Riuitiro Yamane²; Antônio Geraldo Câmara³; Selma Poletti³

INTRODUÇÃO

Define-se o Potencial Receptor Precoce (ERP — Early Receptor Potential) como a resposta elétrica dos segmentos externos dos cones e bastonetes a um estímulo luminoso. O ERP não é mais que a primeira porção do ERG, mas devido as suas características específicas, não é possível registrá-lo com a aparelhagem clássica do eletrorretinograma.

O ERP foi descrito pela primeira vez por Brown e Murakami (1964 e 1964) no macaco, usando microeletrodos e estímulos luminosos intensos.

Cone (1964) demonstrou que este potencial podia ser observado como um novo componente do ERG e posteriormente Pak e Cone (1964) mostraram que o ERP compreendia dois componentes: onda positiva R_1 e onda negativa R_2 . No frio (5°C e abaixo), a R_2 é abolida.

O ERP é uma resposta bifásica e rápida que precede o ERG. A fase inicial R_1 não tem latência na escala em useg e atinge seu pico em aproximadamente 0,5 mseg ou menos, em temperatura ambiente. A fase negativa R_2 atinge seu pico em 1 a 2 mseg ou menos. Essas latências extremamente curtas levam a acreditar que o ERP é gerado nos fotorreceptores. (Cone, 1964).

Vários autores provaram que a origem do ERP se situa a nível dos segmentos externos dos fotorreceptores: mas ao contrário dos outros fenômenos elétricos retinianos (ERG e EOG), o ERP resulta não de trocas iônicas, mas tão somente de deslocamentos de cargas elétricas que surgem nas moléculas de pigmento visual, quando iluminadas.

A rodopsina é constituída por uma proteína (a opsina) e pelo 11-cis-retinal. A luz transforma o 11-cis-retinal em 11-trans-retinal que torna a associação instável, levando à dissociação da molécula. O mesmo se passa provavelmente ao nível do pigmento dos cones. (Quadro 1)

PIGMENTO VISUAL	PRECURSORES		PRODUTOS DE DESCOLORAÇÃO	
	RETINENO	OPSINA	RETINENO	OPSINA
RODOPSINA	11-CIS-RETINAL	BASTONETE	TODO-TRANS RETINAL ₁	BASTONETE
IODOPSINA	11-CIS-RETINAL	CONE	TODO-TRANS RETINAL ₂	CONE

Vemos assim que o ERP nada tem a ver com o fluxo nervoso que leva à visão, mas apenas nos dá a medida do paralelismo dos discos dos segmentos externos e a quantidade do pigmento visual. É um epifenômeno em relação à visão. Isto explica porque se pode obter um ERP do olho enucleado (até 52 horas), e não é possível obtê-lo sempre que há perda de paralelismo dos discos dos segmentos externos (aquecimento a 50°C ou na degeneração retiniana).

Particularizando agora a origem de cada uma das ondas do ERP podemos dizer que a onda R_1 tem origem nos cones (formação de lumi-rodopsina ou meta-rodopsina I) e a onda R_2 é mista, resultando da transformação da meta-rodopsina I em metarodopsina II.

Pode-se concluir que o ERP é gerado por um mecanismo muito próximo ligado à rodopsina. Assim, parece que o ERP está relacionado a ação do pigmento visual. Contudo, as investigações entre o ERP e o descoloramento de pigmentos específicos têm sido efetuadas em olhos dominados por retinas de bastonetes ou cones. (Cone, 1964). Alguns autores têm obtido o ERP de retinas mistas.

A razão porque os cones participam com maior importância na gênese do ERP poderá ser devido a um pormenor histológico. Nos segmentos externos dos cones, um em cada três discos continua com a membrana celular, enquanto que nos bastonetes isto apenas sucede em um em cada cem discos, razão pela qual a resposta elétrica dos bastonetes que é captada pelo eléctrodo corneano é muito menor.

¹ Professor Titular da Disciplina de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense. Pesquisador da FINEP.

² Professor Adjunto da Disciplina de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense. Pesquisador da FINEP.

³ Professores Auxiliares da Disciplina de Fisiologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense. Pesquisadores da FINEP.

A maioria das retinas das aves diurnas estão caracterizadas pela presença de muitos cones, ambos simples ou duplos, enquanto os bastonetes são relativamente poucos. As gotículas gordurosas são comuns e elas podem ser: não coloridas ou coloridas — amarela, laranja ou vermelha. As aves noturnas possuem maior proporção de bastonetes que as diurnas e as gotículas gordurosas não são coloridas.

Morris e Shorey (1967), pela microscopia eletrônica, revelaram a presença dos seguintes tipos celulares: (1) bastonetes únicos, com mitocôndrias muito unidas, sem gotículas gordurosas e um parabolóide; (2) cones duplos com uma gotícula gordurosa e o acessório mostra um grande parabolóide e uma pequena vesícula granular no elipsóide; e (3) duas espécies de cones únicos: tipo I, sem parabolóide, porém, com a região da gotícula gordurosa muito corada e tipo II, sem parabolóide e com a gotícula gordurosa, pouco corada.

As gotículas gordurosas são corpos altamente refráteis, ocorrendo em cones de muitas espécies. A maioria dos receptores contém uma única gotícula; porém gotículas múltiplas e pequenas têm sido descritas em receptores de pombos. Estas gotículas podem aparecer sem cor, verde, amarela, laranja, ou vermelha. Em geral, as gotículas gordurosas ocorrem apenas em cones, ainda que possam ocorrer em bastonetes de répteis. Estas gotículas gordurosas contêm carotenóides que devem ter um papel importante com seus efeitos na visão em um todo e principalmente na visão à cor. (Muntz, 1972).

O propósito de nossas experiências foi determinar o ERP em uma retina de ave, *Sula leucogaster*, que como mostra a microscopia eletrônica é uma retina com predominância de cones.

MATERIAL E MÉTODO

Em nossas experiências, utilizamos o atobá (*Sula leucogaster*) porque pretendemos estudar o seu comportamento visual, uma vez que sua retina é dominada por cones, sendo relativamente pequeno o número de bastonetes. Os cones possuem, no seu segmento interno, uma gotícula gordurosa.

As aves foram anestesiadas com nembu-tal sódico (30 mg/kg de peso) e suas pupilas foram bem dilatadas com fenilefrina 10%.

O fotoestimulador utilizado possui um bom rendimento óptico permitindo a elimi-

nação de todos os artefatos de estímulos. A energia total fornecida às lâmpadas em cada estímulo foi de 26 joules.

As variações de voltagem do ERP, uma vez suficientemente amplificadas, são levadas a um osciloscópio (onde podem ser observadas ou fotografadas), ou gravadas em um aparelho registrador. O aparelho por nós utilizado foi um Myodyne PEM II/IV XY da Alvar.

Empregamos, rotineiramente, eletródios reversíveis de prata-cloreto de prata. Estes eletródios são bastantes estáveis eletricamente, têm baixo ruído e não se polarizam pelas diferenças de voltagem encontradas. Empregamos três eletródios: ativo-corneano (lente de contacto especial); de referência-supra-orbital; e o terra colocado no centro da cabeça da ave.

Além dos registros do potencial receptor precoce, fizemos o controle do estado das retinas examinadas por meio de técnicas histológicas, empregando tanto a microscopia óptica quanto a eletrônica.

A microscopia óptica foi feita em cortes de tecidos corados com hematoxilina-eosina.

Para a microscopia eletrônica foi seguido o seguinte procedimento: (1) enucleação do olho e secção do globo a nível do equador; (2) fixação da hemisfera posterior glutaraldeído 2%; (3) lavagem com tampão (solução tamponada com fosfato pH 7,4, osmolaridade 320 m), sm, por 2h a 4°; (4) fixação com tetróxido de ósmio a 1%; (5) desidratação em série com etanol; (6) inclusão em araldite; (7) secções ultrafinas no ultramicrotomo Porter-Bloom. Espessura ao redor de 90 nm; (8) coloração com acetato de uranila a 0,5% e citrato de chumbo; e (9) exame do material no microscópio eletrônico Zeis, modelo 9S.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No atobá (*Sula leucogaster*) encontramos a presença das ondas "a" e "b" do ERG.

O ERP foi obtido com um flash de luz onde a energia total fornecida às lâmpadas em cada estímulo corresponde a 26 joules. Utilizamos um ganho de 100 uV, velocidade de 5 ms e um filtro de 0,3 KHz.

O ERP é uma resposta rápida que pode ser detectada quando a retina é estimulada por uma luz intensa (26 joules). A intensidade do estímulo requerido para gerar o ERP é aproximadamente 10⁴ vezes mais forte que a requerida para provocar o ERG.

A fase inicial corneana positiva R_1 , tem sido associada à conversão da lumi-rodopsina à meta-rodopsina I no bastonete e lumi-iodopsina à meta-iodopsina I no cone; e a posterior fase negativa, R_2 , com a conversão de meta-rodopsina I à meta-rodopsina II no bastonete e meta-iodopsina I à meta-iodopsina II no cone. (Fig. 1).

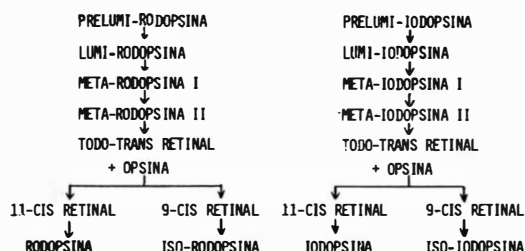


Fig. 1 — Transformação da Prelumi-Rodopsina e da Prelumi-Iodopsina nos outros pigmentos visuais.

No atobá (*Sula leucogaster*) observamos com luz branca uma onda R_1 de pequena amplitude e uma onda R_2 de 200 uV. Com luz vermelha há uma redução do ERP, onde podemos observar uma onda R_2 de 70 uV. Com luz azul, também observamos uma redução da onda R_2 com 100 uV de amplitude. (Figs. 2, 3 e 4).

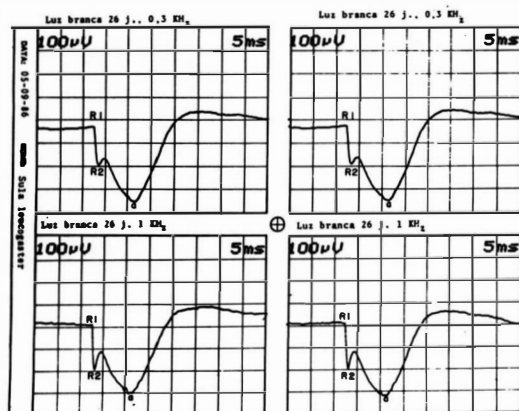


Fig. 2 — Potencial Receptor Precoce quando se utiliza luz branca.

No atobá (*Sula leucogaster*) onde sua retina é dominada por cones, podemos comprovar que a origem deste potencial ocorre nestas células.

O ERG foi registrado com um flash de luz, onde a energia total fornecida às lâmpadas em cada estímulo corresponde a 1 joule.

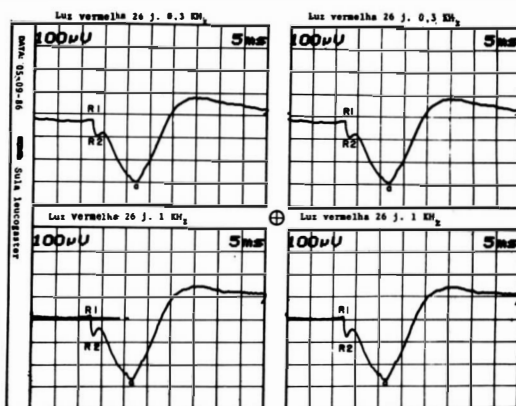


Fig. 3 -- Potencial Receptor Precoce quando se utiliza luz vermelha.

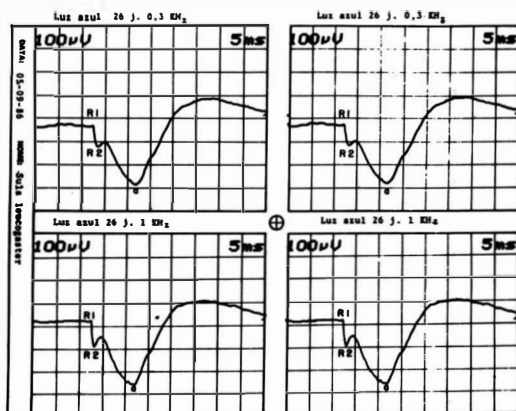


Fig. 4 — Potencial Receptor Precoce quando se utiliza luz azul.

Com luz branca obtivemos uma onda "a" de 170 uV e uma onda "b" de 340 uV; com luz vermelha registramos uma onda "a" de 50 uV e uma onda "b" de 330 uV; e com luz azul uma onda "a" de 100 uV e uma onda "b" de 260 uV. (Fig. 5).

A frequência crítica de fusão encontra-se em 30 ciclos/seg com luz branca, vermelha e azul. (Figs. 6, 7 e 8).

A microscopia eletrônica nos revela dados interessantes, quanto à constituição das células fotorreceptoras e da gotícula gordurosa que na atobá tem coloração alaranjada. (Figs. 9 e 10).

Achamos de máxima importância relacionar a gotícula gordurosa encontrada nos cones dessas aves, com o metabolismo dos carotenóides e com a elevada frequência crítica de fusão encontrada.

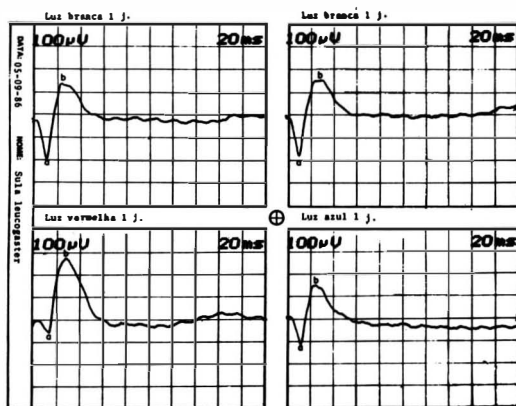


Fig. 5 — Eletroretinograma quando se utiliza luz branca, vermelha e azul. Observa-se as ondas «a» e «b».

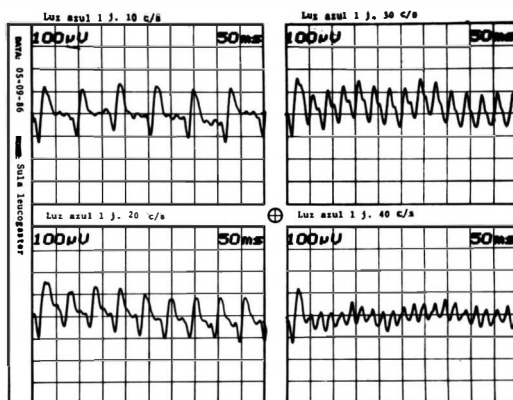


Fig. 8 — Frequência crítica de fusão quando se utiliza luz azul.

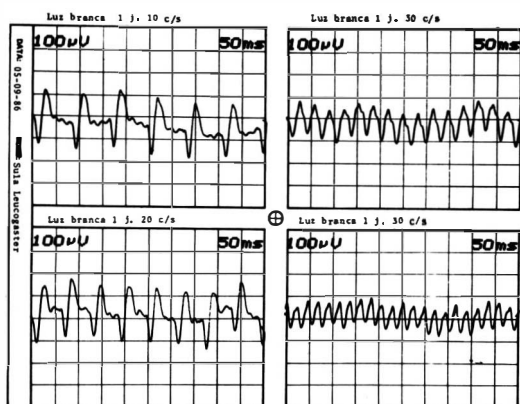


Fig. 6 — Frequência crítica de fusão quando se utiliza luz branca.

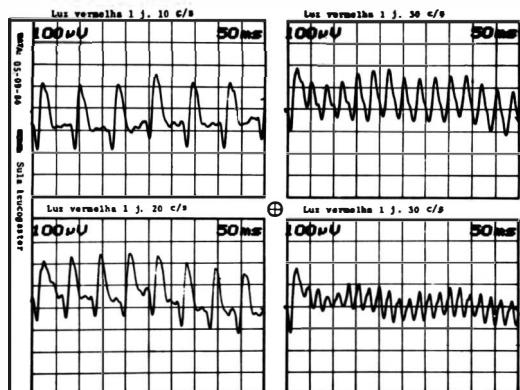


Fig. 7 — Frequência crítica de fusão quando se utiliza luz vermelha.

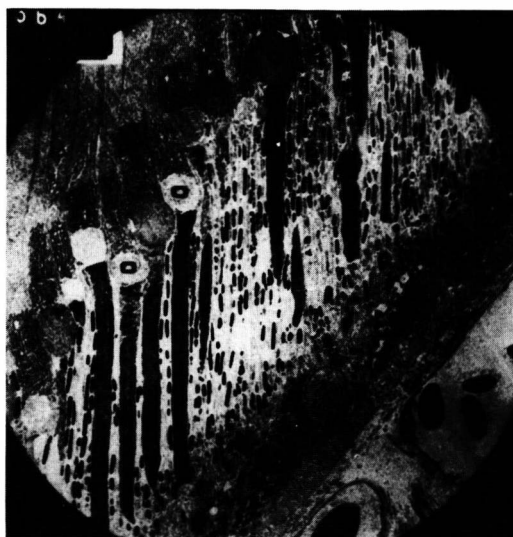


Fig. 9 — Eletro-micrografia a nível dos fotorreceptores da retina de atobá. CP, camada pigmentada; O, gotícula gordurosa (x 2.000).

RESUMO

Os autores estudam o ERP no ERG do atobá (Sula leucogaster). Pela primeira vez estudam este potencial e ao mesmo tempo descrevem a microscopia eletrônica da retina (camada de fotorreceptor) desta ave.

SUMMARY

The authors study the ERP in the ERG of the atobá (Sula leucogaster). For the first time they study this potential and at the same time describe the electron microscopy of the retina (photoreceptor layer) of this bird.

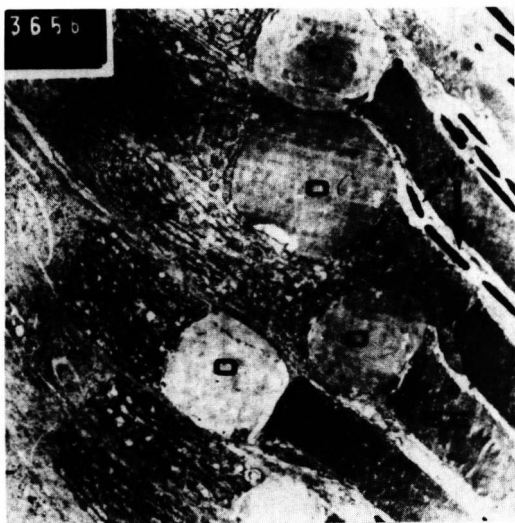


Fig. 10 — Eletromicrografia a nível dos fotorreceptores (cones) da retina de atobá. SE, segmento externo; O, gotícula gordurosa; E, elipsóide (x 7.000).

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Ricardo Luiz Smith, do Departamento de Morfologia da Escola Paulista de Medicina,

os nossos agradecimentos pela facilidades concedidas para execução da microscopia eletrônica.

Aos técnicos de Laboratório Carlos Alberto Bastos e Francisco Gomes o nosso agradecimento.

BIBLIOGRAFIA

1. BROWN, K. T. & MURAKAMI, M. — Biphasic form of the early receptor potential of the monkey retina. *Nature*, 204: 739-40, 1964.
2. BROWN, K. T. & MURAKAMI, M. — A new receptor potential of the monkey retina with no detectable latency. *Nature*, 201: 626-28, 1964.
3. CARR, R. E. & SIEGEL, I. M. — Action spectrum of the human early receptor potential. *Nature*, 225 (5227): 88-9, 1970.
4. CONE, R. A. — Early receptor potential of the vertebrate retina. *Nature*, 204: 736-9, 1964.
5. CONE, R. A. — The early receptor potential of the vertebrate eye, cold. *Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 30: 483-91, 1965.
6. GOLDSTEIN, E. B. & BERSON, E. L. — Cone dominance of the human early receptor potential. *Nature*, 222: 1272-3, 1969.
7. MORRIS, V. B. & SHOREY, C. D. — An electron microscope study of types of receptor in the chick retina. *J. Comp. Neur.*, 129: 313-40, 1967.
8. MUNTZ, W. R. A. — Inert Absorbing and Reflecting Pigments. In: DARTNALL, H. J. A. *Photochemistry of Vision*. Springer-Verlag, 529-65, 1972.
9. PAK, W. L. & CONE, R. A. — Isolation and identification of the initial peak of the early receptor potential. *Nature*, 204 (4961): 836-8, 1964.