

Visuele en niet visuele effecten van licht

Hoe is de perceptie van licht in het oog, en hoe is de interactie van niet-beeldvormende en beeldvormende fotoreceptoren in het oog? Wat zijn de eventuele effecten van disfuncties in staaf-en kegelsellen op visuele en niet-visuele processen?

Naam: Vibeke M. Bruinenberg
Begeleider: Marijke Gordijn
Afdeling: Chronobiologie
Datum: 17-04-2009

Samenvatting

Op dit moment zijn er nieuwe ontwikkelingen op het gebied van verlichting, namelijk dynamische verlichting. Dynamische verlichting is een nabootsing van de dynamiek van het daglicht gedurende de dag door de lichtbron te laten variëren in kleur en intensiteit. Deze nieuwe ontwikkelingen zijn gebaseerd op resultaten uit onderzoeken die gekeken hebben naar het effect van licht op niet-visuele processen in het lichaam zoals onderdrukking van melatonine, circadiane faseverschuivingen, een verhoging van lichaamstemperatuur en hartslagfrequentie, maar ook gedragsveranderingen zoals een verhoging in alertheid en prestatievermogen (Viola et al. 2008). De niet-visuele effecten worden bewerkstelligd door middel van de intrinsieke fotosensitieve retinale ganglion cells (ipRGC) en de klassieke fotoreceptoren, de staaf- en kegelcellen. De ipRGCs kunnen zelf een reactie geven op lichtblootstelling maar ze kunnen ook geïnnerveerd worden door de staaf- en kegelcellen. Hierbij hebben de S-kegelcellen een inhiberende input op ipRGCs en de M-kegelcellen en L-kegelcellen een exciterende input. Kleurenblindheid is een disfunctie in de staafcellen en laat verscheidene fenotype met verschillende genotype zien. Kleurenblindheid komt tot stand door het ontbreken van fotoreceptoren of door abnormale gevoeligheid van de fotoreceptoren. Doordat zonlicht bestaat uit polychromatisch licht is waarschijnlijk de mogelijkheid tot het synchroniseren van een persoon met een disfunctie van de klassieke fotoreceptoren niet aangetast. Echter bij nieuwe ontwikkelingen op het gebied van verlichting wordt vaak polychromatisch licht gebruikt met specifieke pieken van golflengten binnen het spectrum. Individuen met een andere maximale gevoeligheid zullen de pieken in golflengte mogelijkwijs buiten het maximale gevoeligheidsspectrum kunnen vallen waardoor de positieve effecten, die bereikt willen worden met de dynamische verlichting, uitblijven. Hoewel dit op dit moment slechts een hypothese is, is het een goed uitgangspunt voor verder onderzoek om in de toekomst optimaal gebruik te kunnen maken van de wellicht positieve effecten van de eigenschappen van licht.

Inhoudopgave

Titel:	Paginanummer
1. Inleiding	4
2. Licht	5
2.1 Eenheden van licht	5-6
2.2 Kleur van Licht	7
3. Het oog	8
3.1 Anatomie van het oog	8
3.2 De algemene fototransductie	8-9
3.3 Staafcellen en Kegelcellen	9
3.4 Intrinsieke photosensitieve retinale ganglioncellen (ipRGC)	9-8
3.5 Verdeling van de fotoreceptoren over het netvlies	10
4. Sensorische fototransductie in de fotoreceptoren	11
4.1 Fototransductie in de staafcellen	11-12
4.2 Fototransductie in de kegelcellen	12
4.3 Fototransductie in ipRGC	13
4.3.2 Bistabiliteit	13
5. Interactie tussen de verscheidene cellen binnen het netvlies	14
5.1 Staafcellen en kegelcellen interacteren met ipRGCs	14
5.2 ipRGCs bevatten niet als enige fotoreceptoren melanopsine	14
6. Individuele verschillen in waarneming van kleur	15
6.1 Man/Vrouw	16
6.2 Disfuncties/Kleurenblindheid	16-17
7. Discussie	18-19
8. Referenties	20-21

1. Inleiding

Er zijn nieuwe ontwikkelingen op het gebied van verlichting, een voorbeeld hiervan is dynamische verlichting. Dynamische verlichting is een nabootsing van de dynamiek van het daglicht gedurende de dag. Dit wordt waargemaakt door de lichtbron te laten variëren in kleur en intensiteit. Deze verlichting wordt op dit moment nog hoofdzakelijk experimenteel ingestalleerd op de werkvloer (Viola et al. 2008, Mills et al 2007).

De nieuwe ontwikkeling van deze verlichting is gebaseerd op recente resultaten uit onderzoeken die gekeken hebben naar het effect van licht op niet-visuele processen in het lichaam. Zo is pas sinds enkele jaren een nieuw fopigment bekend, intrinsieke fotosensitieve retinale ganglion cells (ipRGC) (Berson et al. 2002). Perceptie van licht door deze cellen hebben een aantal niet-visuele effecten tot gevolg zoals onderdrukking van melatonine, circadiane faseverschuivingen en verhoging van lichaamstemperatuur en hartslagfrequentie, maar ook gedragsveranderingen zoals een verhoging in alertheid en prestatievermogen. (Viola et al. 2008). Deze ipRGC cellen zijn maar een kleine populatie van een grotere groep ganglion cellen, die onder andere het signaal van de fotoreceptoren ontvangen door input van bipolaire cellen om dit vervolgens via de nervus opticus door te zenden naar verscheidene gebieden in de hersenen.

Hoewel de ipRGCs een sleutelrol spelen in het proces van de niet-visuele gevolgen van licht, maken staafcellen en kegelcellen ook een deel uit van dit proces. De fotoreceptoren, staafcellen en kegelcellen, zijn al enkele tientallen jaren bekend als de fotoreceptoren van de visuele beleving van licht, toch spelen ze ook een rol in de niet-visuele effecten (Sakamoto et al. 2004). De visuele beleving van de staafcellen en de kegelcellen komt onder andere doordat deze cellen elk een eigen maximale gevoeligheid hebben voor een bepaalde golflengte. Dit maakt het mogelijk dat de verschillende kleuren kunnen worden waargenomen.

Het netvlies in het oog bestaat niet alleen uit de bovengenoemde fotoreceptoren. Zo zijn naast de fotoreceptoren nog drie andere vormen van cellen in het netvlies. 1) De bipolaire cellen ontvangen input van staafcellen en de kegelcellen waarna ze het signaal door sturen naar de ganglion cellen. Deze bipolaire cellen staan tevens in contact met horizontale cellen en de amacriene cellen door middel van laterale verbindingen. 2) De horizontale cellen ontvangen input van de fotoreceptoren en geven output aan de omliggende bipolaire cellen en andere horizontale cellen. 3) De amacriene cellen ontvangen input van de bipolaire cellen om vervolgens het signaal door te geven aan de ganglion cellen, bipolaire cellen en andere amacriene cellen (Cognitive Neuroscience, MeSH). Momenteel begint het hele web van processen tussen de cellen in het netvlies zich te ontrafelen. Dit roept nieuwe vragen op bijvoorbeeld over de consequentie van deze complexe interactie van cellen op het individu. Zo is kleurenblindheid, een disfunctie in de staafcellen en kegelcellen, al lange tijd bekend. Alleen de gevolgen van deze disfuncties op deze niet-visuele effecten is niet bekend. Nu de resultaten uit deze onderzoeken gebruikt worden om nieuwe commerciële producten op het gebied van verlichting te creëren is het de vraag of de effecten voor elk individu gelijk zullen zijn. Om te onderzoeken of verwacht kan worden dat kleurenblindheid tevens leidt tot veranderingen in de niet-beeldvormende effecten van licht is in deze scriptie de volgende vraag gesteld:

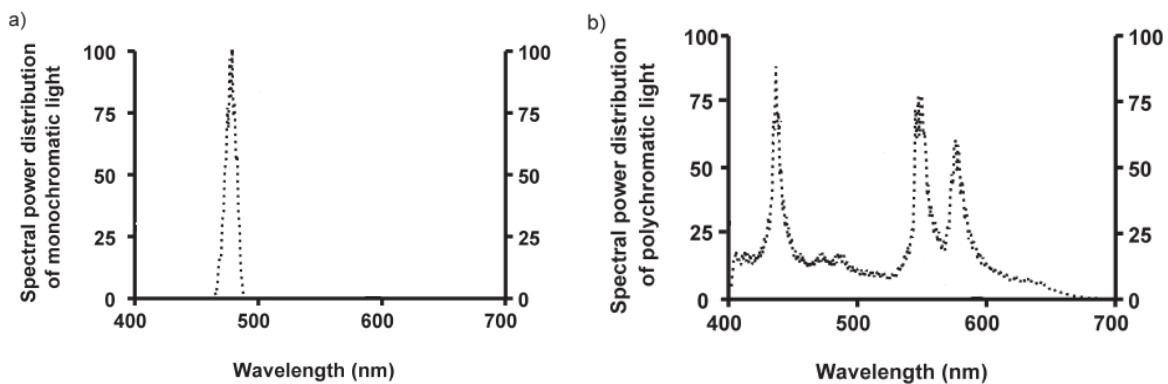
Hoe is de perceptie van licht in het oog, en hoe is de interactie van niet-beeldvormende en beeldvormende fotoreceptoren in het oog? Wat zijn de eventuele effecten van disfuncties in staaf- en kegelcellen op visuele en niet-visuele processen?

2. Licht

Licht is een transversale elektromagnetische golfbeweging met veelvoudige eigenschappen. Waaronder *golflengte*, wat de afstand is tussen twee opeenvolgende punten met een gelijke fase uitdrukt in λ of nm. Licht heeft een elektromagnetische spectrum dat bestaat uit verscheidene frequentie-categorieën waaronder ultraviolet straling, zichtbaar licht en infrarood straling. Voor de mens is alleen de elektromagnetische straling met een golflengte van circa 400 tot 700 nm zichtbaar. De golflengten binnen dit spectrum worden door het verschil in golflengte en de gevoeligheid van de verschillende fotonpigmenten in het oog gezien als verschillende kleuren (Bear et al. 2006).

Er wordt onderscheidt gemaakt tussen monochromatisch licht, een lichtbron met één enkele frequentie en polychromatisch licht, een lichtbron die een combinatie van golflengten uitzend (zie figuur 1).

Monochromatisch licht wordt o.a. door middel van een smalle bandbreedte interferentie filter bewerktsteltig waardoor slechts één piek in de spectrale distributie van golflengten wordt uitgezonden. (Revell et al. 2007).

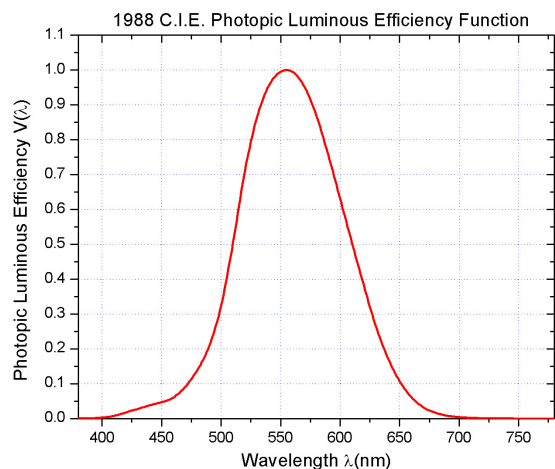


Figuur 1 Spectrale distributie van monochromatisch licht (a) en polychromatisch licht (b)

2.1 Eenheden van licht

Binnen het onderzoeksgebied van licht worden vele eenheden gebruikt om de mate van licht waarneming te kwantificeren. Licht heeft zijn afzonderlijke SI-eenheid namelijk candela (cd) wat de eenheid is van lichtsterkte. Lichtsterkte wordt gedefinieerd als de hoeveelheid licht op elke fractie van de lichtbundel. De officiële definitie van candela gegeven door de SI-eenheid is: "een bron die

monochromatisch licht uitzendt van een frequentie van 540 terahertz, waarvan de stralingsintensiteit gelijk is aan 1/683 watt per steradiaal." (Bureau International des Poids et Mesures (1)). In deze definitie komen enkele nog niet eerder genoemde eenheden voor waaronder Hertz. Dit is de eenheid van frequentie wat het aantal golven per seconde uitdrukt. Echter bij licht wordt door de grote van de eenheid hertz (hierin terahertz = 10^{12} hertz)) vaak omgerekend naar nm of λ . Waarbij 540 terahertz overeenkomt met 555 nm. Tevens komt in de definitie steradiaal (sr) voor, deze SI-eenheid is de ruimtehoek tussen het middelpunt van een bol en een bepaalde cirkel (opp. cirkel= r^2) op het boloppervlak. In de definitie van candela komt



Figuur 2 De ooggevoeligheidscurve vastgesteld door de CIE in 1988. Bron: <http://note.j-i-n.name/2005/06/photopic-luminous-efficiency-function>

naar voren dat het een bron is van monochromatisch licht met 555 nm. Dit betekent dat er voor andere kleuren gecorrigeerd moet worden voor de gevoeligheid van het menselijk oog. Deze correctie is vastgesteld door Commission internationale de l'éclairage, een internationale autoriteit op het gebied van licht, lichtbronnen, kleur en kleuruimten. Deze internationale autoriteit heeft een ooggevoeligheidskromme opgesteld (zie figuur 1.).

Deze curve omschrijft de gemiddelde gevoeligheid van het menselijk oog over de verschillende golflengten in fotopische lichtcondities. Een fotopische lichtconditie ontstaat als er genoeg licht aanwezig is om kleur waar te nemen met de kegelcellen. Op de y-as staat de standaard licht effectiviteit uitgezet in $V(\lambda)$ ook bekend als $\bar{y}(\lambda)$. Op de x-as staat de golflengte uitgezet in nm. De functie die de curve beschrijft van de totale lichtstroom is:

$$F = 683.002 \text{ lm/W} \cdot \int_0^{\infty} \bar{y}(\lambda) J(\lambda) d\lambda$$

F= lumen

$y(\lambda)$ = de standaard licht effectiviteit

$J(\lambda)$ = het vermogen per unit golflengte

λ = golflengte

De uitkomst van de functie wordt uitgedrukt in lumen wat de eenheid is van lichtstroom, met SI-eenheid cd.sr. De definitie van lichtstroom is de totale hoeveelheid zichtbaar licht die een lichtbron per seconde uitstraalt. Doordat de SI-eenheid cd.sr is, betekent dit dat wanneer een monochromatische lichtbron 683 lumen uit wil stralen met een golflengte van 555 nm één Watt stralingsvermogen moet bevatten. Omdat de verschillende kleuren een eigen golflengte hebben met een eigen gevoeligheid van het menselijk oog betekent dit wanneer een golflengte verandert maar het stralingsvermogen constant blijft de intensiteit in lumen afneemt.

De hierboven genoemde functie beschrijft niet de lichtperceptie door het oog. Hiervoor is ten eerste de lichtstroom (lm) per oppervlakte eenheid nodig, genaamd lux. Lux is de verlichtingssterkte waarbij 1 lux gelijk is aan 1 candela loodrecht op een oppervlakte op een afstand van 1 meter. Hoewel deze eenheid de hoeveelheid licht in de omgeving beschrijft, beschrijft het nog niet de hoeveelheid licht wat werkelijk het oog bereikt.

Een eenheid voor de hoeveelheid licht die van een oppervlakte terugkomt naar het oog heet luminantie. De SI- eenheid van luminantie is cd/m^2 , deze SI-eenheid beschrijft hetgeen dat luminantie in houdt als de hoeveelheid licht (cd) per oppervlakte eenheid (m^2) dat wordt uitgezonden of weerkaatst. Luminantie is sterk afhankelijk van de verlichtingssterkte (cd) en de reflectie-eigenschappen van een vlak. Hoewel deze eenheid het licht uitdrukt dat aan het oog wordt blootgesteld, is het nog niet bekend wat het totaal aan fotonen dat daadwerkelijk de fotoreceptoren raakt.

Een andere manier dan hierboven genoemd, is het licht puur te kwantificeren door het uit te drukken in energie. Energie wordt ook wel stralingssterkte genoemd en heeft de eenheid W/m^2 .

Licht kwantitatief uitdrukken in energie is een veel voorkomend fenomeen binnen het onderzoeksgebied van licht. Echter met de energie waarde van licht weet men nog niet de werkelijke hoeveelheid fotonen die fotoreceptoren ontvangt. Het aantal fotonen kan berekend worden met behulp van de spectrale distributie van de lichtbron en de bekende energiewaarden van de fotonen bij de verschillende golflengten (Revell et al. 2007).

Samenvattend worden binnen onderzoek naar licht verschillende eenheden gebruikt. Elke eenheid met zijn eigen voor-en nadelen. Bijvoorbeeld door het uitdrukken van licht in fotonen is het werkelijke aantal van fotonen die de fotoreceptor raakt te kwantificeren. Hoewel deze precieze maat handig is voor celonderzoek is dit minder van belang bij onderzoek waarbij verlichting wordt gebruikt in een grote ruimte. Wel is van belang om een begrip te hebben van deze vele eenheden waardoor een vergelijking tussen onderzoeken gemaakt kan worden.

Tabel 1: Overzichtsschema van de behandelde lichteenheden:

Lichteenheid	Definitie	Eenheid
Lichtsterkte	Hoeveelheid licht op elke fractie van de licht bundel	cd
Lichtstroom	Totale hoeveelheid zichtbaar licht die een bron per seconde uitstraalt	cd.sr
Lux	Lichtstroom met oppervlakte eenheid	lm/m ²
Luminantie	Hoeveelheid licht per oppervlakte eenheid wat wordt uitgezonden of teruggekaatst	cd/m ²
Stralingssterkte	Energie van licht	W/m ²

(Bureau International des Poids et Mesures (2))

2.2 Kleur van Licht

Hierboven is hoofdzakelijk monochromatisch licht aan bod gekomen uitgedrukt in golflengte. Echter bij polychromatisch licht is dit niet mogelijk en het wordt daardoor uitgedrukt in kleurtemperatuur met als eenheid Kelvin (K). De kleurtemperatuur van een lichtbron wordt beschreven aan de hand van een zwart lichaam (black body). Een zwart lichaam is in de natuurkunde een voorwerp dat licht absorbeert. Hoewel het zwarte lichaam het licht absorbeert, straalt het ook licht uit met een karakteristiek spectrum dat temperatuur afhankelijk is. De kleurtemperatuur is dan ook de temperatuur van het zwarte lichaam waarbij de specifieke kleur wordt uitgezonden.

In figuur 3 is een voorbeeld te zien van de zichtbare kleuren met de afzonderlijke kleurtemperatuur. Om een algemeen beeld te krijgen hoe de kleuren in het dagelijks leven aanwezig zijn, heeft een kaars een kleurtemperatuur van 1200 K, Een halogeenlamp 3000 K en een middagzoon een kleurtemperatuur van 6000 K.



Figuur 3 Kleurtemperatuur

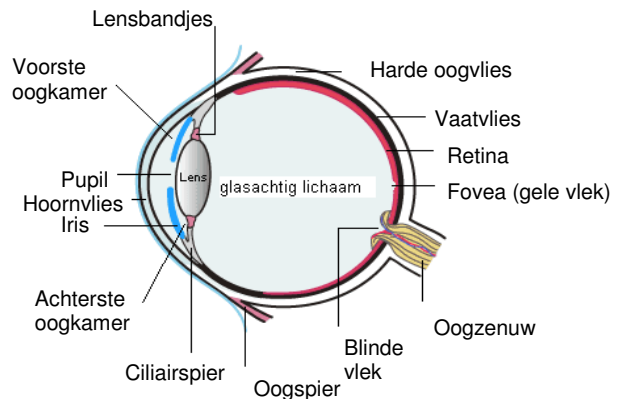
3. Het oog

3.1 Anatomie van het oog

Het oog is bij mensen *het* orgaan wat zorgt voor detectie, localisatie en analyse van licht. Hierdoor is het dan ook essentieel voor het vormen van een beeld van de omgeving. Niettemin is het oog evenzeer bekend voor zijn niet-visuele verwerking van licht. Zo kan het lichaam in de pas blijven lopen met de natuurlijke afwisseling van licht en donker en kan het efficiënt reageren op de hoeveelheid licht door middel van de pupil reflex.

Het oog bij mensen bestaat in hoofdlijn uit de volgende onderdelen, die elk verschillende componenten bevatten;

- harde oogvlies wat zorgt voor stevigheid en bescherming, bevat hoornvlies
- vaatvlies wat zorgt voor de bloedvoorziening van het oog, bevat pupil en iris
- straalvormig lichaam zorgt voor accommodatie van de lens, bevat ciliaarspier en lensbandjes
- netvlies zorgt voor beeldvorming en niet-beeldvormende effecten door licht, bevat fotoreceptoren, blinde vlek (hier lopen de zenuwuitlopers van de oogbol naar de oogzenuw) en de gele vlek (hier bevinden zich alleen kegeltjes in de lichtgevoelige laag)
- Glasachtig lichaam is een heldere gelachtige vloeistof wat o.a. zorgt voor de vorm van het oog en een goed contact tussen het netvlies tegen het vaatvlies.



Figuur 4 Het oog Bron: <http://www.visionsofjoy.org/images/eye%20anatomy>

3.2 De algemene fototransductie

Het netvlies en daarbij de aanwezige fotoreceptoren zijn essentieel voor de beeldvormende en niet-beeldvormende effecten van licht (Panda et al. 2003). Om deze reden zal in het vervolg van de scriptie slechts de onderdelen van het netvlies beschreven worden.

Wanneer het licht binnen treedt in het oog valt het op de netvlies. Dit betekent dat het licht door de lagen boven de fotoreceptoren moet doordringen voordat het licht bij de staafcellen en de kegeltjes komt. Wanneer het licht doorgedrongen is vindt er een directe cascade plaats van de fotoreceptor naar de bipolaire cellen om vervolgens naar de ganglioncel via de nervus opticus naar de hersenen te gaan. Weliswaar wordt het signaal van licht vanuit de fotoreceptoren via de directe route naar de optische zenuw getransporteerd en hierbij ook naar de hersenen. Toch ontbreekt in deze cascade nog twee andere soorten cellen, de horizontale cellen en de amacriene cellen.

De horizontale cellen ontvangen input van de fotoreceptoren en projecteren lateraal neuriten naar de omliggende bipolaire cellen. Hierbij kan het invloed uitoefenen op de omliggende cellen. De amacriene cellen ontvangen input van de bipolaire cellen om vervolgens het signaal over te brengen naar de ganglion cellen, bipolaire cellen en andere amacriene cellen (Bear et al. 2006).

3.3 Staafcellen en Kegelcellen

De staafcellen en de kegelcellen liggen nagenoeg in de onderste laag van het netvlies, nog net boven het gepigmenteerde epitheel. Deze fotoreceptoren lijken in hoofdlijnen erg op elkaar, Zo bestaan staafcellen en kegelcellen, van binnen naar buiten, uit;

- een synaptische terminal
- een binnen segment bestaande uit een cellichaam
- een buiten segment met de fotoreceptor bestaande uit membraanschijven die de fotopigmenten bevatten

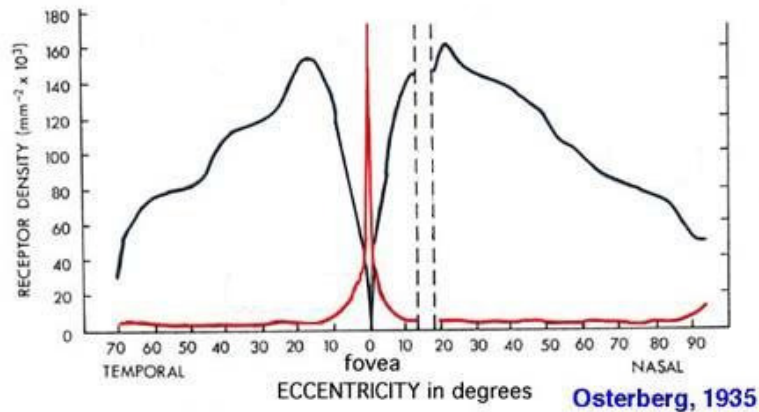
Het verschil tussen de organisatie van de cellen is dat de kegelcellen minder membraanschijven hebben waardoor het buitensegment korter is. Daarnaast bestaan de staafcellen slechts uit één klasse van cellen terwijl kegelcellen uit drie klassen bestaan, long-wavelength cellen (L-cellen), mid-wavelength cellen (M-cellen) en short-wavelength cellen (S-cellen). De drie klassen van kegelcellen worden onderverdeeld door hun afzonderlijke maximale λ . Dit betekent dat er een verschil is in gevoeligheid voor de frequentie van licht. De drie typen kegelcellen zijn maximaal gevoelig voor de kleuren rood, groen of blauw (Bear et al. 2006). Doordat de staafcellen meer membraanschijven bevatten zijn ze zeer sensitief door de hogere concentratie aan fotopigment ten opzichte van de kegelcellen. Staafcellen kunnen slechts één foton opmerken waardoor staafcellen ze zeer goed werken bij lage licht intensiteit. De kegelcellen zijn veel minder gevoelig waardoor ze beter functioneren bij hogere licht intensiteit. De kegelcellen beginnen pas te reageren bij ongeveer 3 fotonen maar zijn reactief tot ongeveer één miljoen fotonen (Carroll 2008). Door dit verschil in reactie op licht intensiteit wordt er vaak onderscheidt gemaakt tussen scotopische en fotopische waarneming. Scotopische waarneming vindt plaats onder een luminantie niveau van 10^{-2} tot 10^{-6} cd/m², en wordt slechts waargenomen door de staafcellen. De fotopische waarneming vindt plaats onder goed verlichte condities en wordt hoofdzakelijk bewerkstelligd door kegelcellen. Er is ook een intermediaire maat mesopisch, waarbij staafcellen en kegelcellen beide actief zijn.

3.4 Intrinsically photosensitive retinal ganglion cell (ipRGC)

Jarenlang werd gedacht dat ganglion cellen slechts afhankelijk waren van polysynaptische invloeden van de staafcellen en de kegelcellen die geïnerveerd worden door het licht. Echter sinds enkele jaren is bekend dat een kleine populatie van ganglion cellen ook bij afwezigheid van staafcellen en kegelcellen een reactie op licht kunnen geven (Berson 2007). De ganglioncellen die het fotopigment melanopsine tot expressie brengen heten intrinsieke photosensitieve retinale ganglioncellen (ipRGC) en projecteren o.a. naar suprachiasmatic nuclei (SCN, de circadiane pacemaker) en de olivary pretectum (OPN, zorgt voor de pupil respons op licht) (Hatter et al 2003). Deze ipRGC's hebben hierdoor verscheidene non-visuele effecten, waaronder fysieke reacties zoals onderdrukking van melatonine, circadiane faseverschuivingen, een verhoging van lichaamstemperatuur en hartslagfrequentie, maar ook gedragsveranderingen zoals een verhoging in alertheid en prestatievermogen ten gevolge van licht. (Viola et al. 2008). De ipRGCs zijn grote cellen door uitgestrekte dendrietbomen (Dacey et al. 2003). Echter de waarschijnlijkheid tot vangen van een foton per eenheid oppervlakte van netvlies belichting is wel 10^6 maal kleiner dan dat van staafcellen en kegelcellen. (Tri H. Do et al 2009)

3.5 Verdeling van de fotoreceptoren over het netvlies

De fotoreceptoren zijn niet homogeen verspreid over het netvlies. Dit is weergegeven in figuur 6. In figuur 6 is ten eerste duidelijk dat de dichtheid van de fotoreceptoren erg verschillend. Over het algemeen is te zien dat de staafcellen over de gehele netvlies verspreid zijn. Behalve op 0° graden op de x-as gedefinieerd is als fovea, wordt tevens omschreven als gele vlek. De gele vlek ligt recht tegenover de pupil en bevat enkel kegelcellen. Tevens wordt in de grafiek met een stippellijn de blinde vlek aangegeven. In de blinde vlek zijn geen fotoreceptoren aanwezig slechts de uitlopers van de zenuwuitlopers die naar de oogzenuw leiden. (Bear et al. 2006)



Figuur 5 Fotoreceptor distributie: De rode lijn geeft de distributie weer van de staafcellen en de zwarte lijn de distributie van de kegelcellen. De stippellijn geeft de aanwezigheid van de blinde vlek weer (Ostenberg 1935)

De precieze verdeling van de staafcellen en kegelcellen is al enkele tientallen jaren bekend, maar dit is niet het geval voor de ipRGCs bij mensen.

Om de verdeling van ipRGCs te bepalen bij mensen wordt in humane studies vaak gebruik gemaakt van de mate van melanopsine onderdrukking als gevolg van belichting van het netvlies. In een tweetal onderzoeken kwam naar voren dat wanneer het netvlies belicht werd op de nasale kant er een grotere onderdrukking optrad van melatonine in vergelijking met de belichting van de temporale kant van het netvlies (Visser et al. 1999, R uger et al 2005) Tevens vond Lasko et al 2003 dat het blootstellen aan licht aan het onderste gedeelte van het netvlies een grotere onderdrukking van melatonine bewerkstelligde in vergelijking met het bovenste gedeelte van de retina. De gevonden resultaten kunnen duiden op een hogere concentratie aan receptoren in die gebieden van het netvlies die zorgen voor een verhoging in melatonine onderdrukking of dat de gevoeligheid van deze receptoren groter is in deze gebieden.

4. Sensorische fototransductie in de fotoreceptoren

De transductie van licht door fotoreceptoren wordt terug gevonden in het gehele dierenrijk. Al deze fotoreceptoren zijn elk evolutionair terug te traceren naar 2 verschillende lijnen. Bij de eerste lijn vindt de fototransductie plaats in microvilli. Vaak is het zo dat de microvilli stevig op elkaar gepakt zijn waardoor een rhabdomeer gevormd wordt. Deze rhabdomeren zijn onder andere terug te vinden in het oog van invertebraten. De tweede lijn van fotoreceptoren verrichten fototransductie door middel van gespecialiseerde cilia. Deze fotoreceptoren zijn vooral terug te vinden in vertebraten als staafcellen en kegelcellen (Graham et al 2008)

4.1 Fototransductie in de staafcellen

Staaftcellen en kegelcellen hebben beide een buiten segment die gespecialiseerd is voor het detecteren van een foton signaal. Echter de morfologie van de buitensegmenten zijn verschillend. Zo worden de membraanschijven in de kegelcellen omgeven door een plasma membraan, terwijl bij kegelcellen het plasma membraan veelvuldig vouwt waardoor er een lamellen structuur ontstaat. (Kawamura et al. 2008). Hierdoor hebben de staafcellen en de kegelcellen hun eigen karakteristieke respons op licht. De staafcellen bevatten de G-gekoppelde eiwit receptor rhodopsine dat zich bevindt in de interne membraan structuur, de schijfmembranen. Rhodopsine is een opsine gebonden aan het lichtabsorberende chromofoor 11-cis-retinal (wordt gesynthetiseerd door het pigment in het epithelium). Wanneer licht valt op rhodopsine zet deze de inactieve 11-cis retinal om in een active all-trans retinal. Dit zorgt voor stabilisatie van de actieve conformatie, waardoor het niet meer licht kan absorberen en gebleekt is. Het actieve rhodopsine activeert het G-eiwit transducin waardoor het het enzym fosfodiesterase (PDE) activeert. Wanneer PDE geactiveerd wordt hydrolyseert het cyclic guanosine monophosphate (cGMP) dat zorgt voor een loslating van cGMP van de Na⁺ kanalen. Deze loslating zorgt voor een sluiting van de Na⁺ kanalen waardoor Na⁺ in de cel daalt. Deze daling zorgt dan voor een hyperpolarisatie van de staafcel.

Na activatie van licht is regeneratie van het chromofoor nodig om de fotosensitiviteit te herstellen. Het actieve rodopsine kan op twee verschillende manieren herstellen. 1) fosforylatie van de actieve vorm door een rodopsine kinase (GRK1) en 2) door binding met het eiwit arrestine dat zorgt voor een soort kap over de overige activatie heen. Deze twee processen hebben een vrijlating van all-trans-retinal van de opsine als gevolg dat zorgt voor omzetting terug naar 11-cis-retinal. (Panda et al. 2003; Fu et al. 2007). Tevens zijn er moleculen verderop in de cascade gelegen die ook een inactivatie proces ondergaan. Zo bestaat transducine uit drie subeenheden, α , β en γ , die geactiveert worden door binding van GTP aan α . Hydrolyse van GTP door GTPase zorgt voor inactivatie van transducin (Campbell et al 2005, Shichida et al 1998).

Hierboven is beschreven op welke manier staafcellen reageren op een enkele foton. Echter bestaat het licht uit de omgeving over het algemeen niet uit een enkele foton. Om deze reden kunnen staafcellen zich ook aanpassen aan licht. De staafcel doet dit door de gevoeligheid te verlagen en reactiviteit op de lichtrespons te verhogen. De staafcel heeft een in het donker een balans in zijn Ca²⁺ huishouding doordat Ca²⁺ kanalen openstaan en de Na⁺/K⁺ pomp Ca²⁺ kan uitwisselen waardoor Ca²⁺ naar buiten de cel wordt gepompt. Wanneer licht op de cel valt sluiten de Na⁺ kanalen via het bovengenoemde proces. Deze sluiting zorgt voor een daling van Ca²⁺ doordat de Na⁺/K⁺ pomp onafhankelijk van licht werkt. Deze daling in Ca²⁺ wordt gedetecteerd S-moduline/recoverin en Guanylyl Cyclase Activator Proteins (GCAPs). Recoverin zorgt bij hoge concentraties voor een verlenging van de levensduur van het actieve rodopsine door te binden aan rodopsine kinase. Bij lage concentraties bindt recoverin niet waardoor de levensduur van actieve rodopsine verkort wordt (Ames et al 2006). In de afwezigheid van Ca²⁺ stimuleert GCAP retinal guanylyl cyclase (RetGC) activiteit. RetGC stimuleert de synthese van cGMP (Dizhoor et al. 1994). Wanneer een cel zich bevindt in een zwak constant licht zullen enkele Ca⁺

openstaan en enkele zullen gesloten zijn. Wanneer deze cel dan aan een lichtflits wordt blootgesteld zal als gevolg van aanwezigheid van S-modulin/recoverin en GCAPs de cGMP concentratie daling minder sterk en meer gelijdelijk maken (Kawamura et al. 2008).

4.2 Fototransductie in de kegelcellen

Het mechanisme achter de fototransductie van staafcellen is niet volledig bekend. Dit komt onder andere doordat het zeer moeilijk is om grote hoeveelheden te isoleren voor onderzoek (Tachibanaki et al. 2007). Wel is bekend dat dezelfde componenten die aanwezig zijn in de staafcellen ook in de kegelcellen aanwezig. Deze componenten zijn de visuele pigmenten, arrestine, PDE, transducine, visueel pigment kinasen, Na^+/K^+ Ca^{2+} uitwisselaar en cGMP-gated kation kanalen (Fu et al. 2007; Tachibanaki et al. 2007). Elk type kegelcel zal zijn eigen type opsine bevatten doordat er verschillen zijn in de maximale gevoeligheid van elke fotoreceptor. Verder zullen de kegelcellen door de karakteristieke respons op licht kwantitatieve verschillen zijn in de cascade van de kegelcellen ten opzichte van de staafcellen. Zo zijn staafcellen gevoeliger voor fotonen dan kegelcellen. Één rodopsine in een staafcel wordt geactiveerd door één foton. Het actieve rodopsine kan meer dan 50 moleculen transducine per seconde activeren. Één transducin activeert één PDE. Maar één molecuul PDE hydrolyseert meer dan 1000 moleculen cGMP per seconde (Leskov et al., 2000; Yee et al. 1978). Er is ook gekeken naar deze zelfde moleculen bij kegelcellen om de lichtgevoeligheid te vergelijken. Hierbij kwam naar voren dat een activatie van een opsine in kegelcellen slechts 2 moleculen transducine activeert. (Kawamura et al. 2008). Dit kwam overeen met de bevindingen uit voorgaand onderzoek waar men vond dat de transducin activatie 30 keer minder effectief was dan in staafcellen (Tachibanaki et al. 2001). Tevens werd gevonden dat de PDE activatie ook vermindert was (Kawamura et al. 2008). Daarentegen hebben kegelcellen een korter lichtflits respons dan staafcellen. Dit zou kunnen betekenen dat kegelcellen sneller de cascade kunnen inactiveren. Zo zijn er verschillen gevonden in het afbreken van het lichtsignaal door middel van fosforylatie door GRK1. Rodopsine, van de staafcellen, heeft 7 serine/threonine residuen aan de C-terminal waardoor er fosforylatie locatie is voor GRK1. Kegcellen bevatten meer potentiële locaties tot fosforylatie dan kegelcellen waardoor ze wellicht sneller gefosforyliseert zouden kunnen worden (Fu et al. 2007). In onderzoek van Tachibanaki et al. (2001) kwam naar voren dat de fosforylatie van het visuele pigment 20 keer sneller plaats vindt dan bij staafcellen. Daarenboven zijn er verschillen gevonden in de typen S-modulin/recoverin en GCAPs die tot expressie worden gebracht in de staafcellen en de kegelcellen deze zouden invloed kunnen zijn op de adaptatie van kegelcellen op licht. (Kawamura et al. 2008)

4.3 Fototransductie in intrinsieke photosensitieve retinale ganglioncellen (ipRGC)

De ipRGC bevat het fotopigment melanopsine. Deze komt niet overheen met de andere fotopigmenten gevonden in het oog van vertebraten. Melanopsine vertoont meer gelijkenis met rhabdomeren door vergelijkbare bistabiliteit en structuur (Graham et al. 2008)

Een directe fotorespons van de ipRGC, een fotorespons buiten de invloeden van staafcellen en/of kegelcellen om, kan door zowel een diffuse lichtstimuli ontstaan als een signaal dat enkel op de soma of de dendrieten gericht is. Het fototransductie mechanisme is ingevolge van deze bevinding waarschijnlijk over de gehele cel verspreid (Berson, 2007)

De belichting van de ipRGC zorgen voor een membraan depolarisatie als gevolg van de verhoging van de intracellulaire Ca^{2+} . Het mechanisme dat achter deze verhoging schuilt is echter nog niet geheel ontrafeld. Wel is bekend dat bij het proces van signaaltransductie door melanopsine zowel een G(q/11)-klasse G-eiwit als een phospholipase C (PLC) betrokken. Deze componenten komen overeen met de fototransductie cascade van rhabdomerische fotoreceptoren dit in tegenstelling tot de activatie van een Gt-eiwit en een phosphodiesterase bij staafcellen en kegelcellen. Echter complete uitsluiting van

andere cascade dan die enkel gevonden wordt bij rhabdomerische fotoreceptoren is nog niet mogelijk doordat de cascade nog niet geheel bekend is (Graham et al. 2008)

Verscheidene onderzoeken richten zich op de phosphoinositide cascade van fototransductie doordat deze cascade aanwezig is bij de invertebrate fotoreceptoren. Om deze reden komt slechts deze cascade aan de orde (Graham et al 2008, Koyanagi et al.2005).

Wanneer G(q/11)- klasse G-eiwit wordt geactiveerd door licht, activeert het PLC β . PLC β hydrolyseert phosphatidylinositol (4,5)- biphosphate (PIP₂) dat als gevolg heeft dat er twee second-messengers ontstaan. Het één is diacylglycerol (DAG) dat in het membraan blijft. Het andere is inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) dat het cytosol binnentreedt. In het cytosol bindt het aan de IP₃ receptoren op de intracellulaire opslag van Ca²⁺. Deze binding heeft een vrijlating Ca²⁺ als gevolg. Hoewel data uit het onderzoek van Graham et al. (2008) suggereren dat deze cascade wellicht een rol heeft binnen de fototransductie van ipRGC is dit waarschijnlijk slechts een modulatorische rol en geen essentiële rol. In het artikel (Graham et al. 2008) werd wel enkele alternatieve hypothese geïntroduceerd. Ten eerste werd DAG naar voren geschoven als de second messenger met een sleutelrol. DAG is het membraan-geassocieerd product van de PIP₂ hydrolyse. Echter het o.a. toevoegen van een actieve analoog van DAG zorgde niet voor een elektrische activatie. Als gevolg van deze resultaten werd er een andere hypothese voorgesteld. PLC zorgt voor de opening van light-gated kanalen door directe interactie van PIP₂ en de ion kanalen. In eerder onderzoek was namelijk naar voren gekomen dat PIP₂ een variëteit aan kanalen kan laten sluiten en openen in light-gated kanalen in *Drosophila*. Tevens werd er door Suh et al.2006 gevonden dat veranderingen in PIP₂ aanwezigheid kan zorgen voor de opening van kanalen zonder veranderingen in de aanwezigheid van DAG,IP₃ en CA²⁺. Hoewel deze hypothese zeer plausibel is ontbreekt de definitieve test van dit mechanisme.

4.3.2 Bistabiliteit

Zoals eerder genoemd heeft de ipRGCs nog een andere eigenschap die uniek is ten opzichte van de andere fotoreceptoren, namelijk bistabiliteit. Deze bistabiliteit kwam onder andere naar voren in het onderzoek van Mure et al.(2007) waarbij de retina van muizen gestimuleerd werden met monochromatisch licht van verschillende golflengten. Binnen dit onderzoek werden de muizen blootgesteld aan 480 nm gevolgd door of duisternis of andere golflengte. Wanneer de retina alleen gestimuleerd wordt door monochromatisch licht van 480 nm wordt er een karakteristieke verhoging in het vuurpatroon van een enkele SCN neuron waarneembaar in vergelijking met het basis vuurpatroon in de duisternis. Wanneer de retina eerst blootgesteld werd aan 480nm gevolgd door duisternis en dan nog een keer blootgesteld aan 480nm werd er geen significante verhoging gevonden in verhoging van het vuurpatroon. Dit kan duiden op afwezigheid van het herstel door de afwezigheid van licht. Echter wanneer de retina wordt blootgesteld aan 480nm gevolgd door 620 nm en hierna 480 nm wordt er een verhoging gevonden in het vuurpatroon van één SCN neuron bij 480 nm. Door dit zelfde schema uit te voeren met andere golflengten tussen 420nm tot 620nm ontstaat er een spectrale respons functie. Hierbij geldt dat golflengten boven de 560nm verhogen het vuurpatroon terwijl golflengten van 530nm of korter zorgen voor een verlaging in vuurpatroon. Om te bevestigen dat melanopsine betrokken is bij dit proces is dit tevens uitgevoerd met een Op₄^{-/-} muis, waarbij melanopsine afwezig is. Bij deze muizen werd slechts een kleine verkleining van het vuurpatroon gevonden na blootstelling aan 620nm wat het gevolg zou kunnen zijn van het bleekproces van de staafcellen en de kegelcellen.(Mure et al. 2007) Bij hierboven beschreven fenomeen, is het niet duidelijk wat er op cel niveau gebeurt in de mens. Er zijn aanwijzingen vanuit onderzoek bij invertebraten zoals *Drosophila* waarbij de de rodopsine 1 receptor bistabiel is. Integeningstelling tot het mechanisme van de staafcellen en de kegelcellen zetten deze rodopsine1 cellen het all-trans-retinal terug naar de actieve vorm met behulp van arrestine. Hierdoor functioneert het als fotoisomerase waardoor een secundair mechanisme voor regeneratie van het pigment onnodig is (Panda et al 2005).

5. Interactie tussen de verscheidene cellen binnen het netvlies

Zoals al eerder genoemd, is de meest directe verwerking van het licht van fotoreceptor naar de bipolaire cellen naar de ganglioncel via de nervus opticus naar de hersenen. Echter hiermee zijn de complexe mechanisme tussen de fotoreceptoren en andere cellen nog niet beschreven. Dat deze aanwezig zijn, worden in diverse studies aangetoond. Echter zal in deze paragraaf slechts de onderdelen behandeld worden die waarschijnlijk direct van invloed zijn in kleurwaarneming.

4.1 Staafcellen en kegelcellen interacteren met ipRGCs

Één van de onderzoeken die de aanwezigheid van ipRGCs doet vermoeden is het onderzoek gedaan aan de natuurlijk voorkomend mutant *rd/rd*. Bij deze mutant treedt een verlies van staafcellen en kegelcellen op dat leidt tot een verlies in deze fotoreceptoren van 95% op de leeftijd van 18 maanden. Evenwel werd er bij deze mutant een circadiane respons op lichtstimulatie gevonden. (Foster et al. 1991). Om dit resultaat kracht bij te zetten werd er ook een muis gegenereerd waarbij alle functionele staafcellen en kegelcellen ontbraken (*rd/rd cl* muis). Ook bij deze muizen werd er een normaal ritme gevonden die gesynchroniseerd kon worden aan het licht. (Lucas et al. 1999). Deze onderzoeken laten zien dat staaf- en kegelcellen niet essentieel zijn voor de niet-beeldvormende effecten van licht maar dit betekent niet dat ze geen invloed uitoefenen. Zo werd onder andere in onderzoek gevonden dat ratten waarbij de klassieke fotoreceptoren gedegenereerd zijn in de , RCS N/- *rdy* rat, er een significante verlaging is in het niveau van melanopsine mRNA en eiwit. Het verlies in melanopsine afschrijvingen was niet toe te schrijven aan een verlies in ipRGCs maar aan een verlaging in melanopsine transcriptie doordat PACAP wel zijn expressie niveau behield. PACAP en melanopsine worden normalitair samen tot expressie gebracht met dezelfde distributie (Sakamoto et al. 2004). Alleen bij Triple-knockout muizen, waarbij zowel het melanopsine gen als de transductie cascade van de staafcellen en de kegelcellen uitgeschakeld zijn, wordt er een compleet verlies van fotonisch entrainment, pupil licht reflex gevonden (Ouria Dkhissi-Benyahya et al. 2006) Om een indicatie te krijgen van de interacties tussen de klassieke fotoreceptoren en de ipRGCs is er hier een elektrofysische studie naar gedaan. In dit onderzoek kwam naar voren dat S-kegelcellen een inhibitorische input op ipRGCs hebben. De staafcellen, M-cellen en L-kegelcellen een exciterende input hebben. (Dacey et al. 2005)

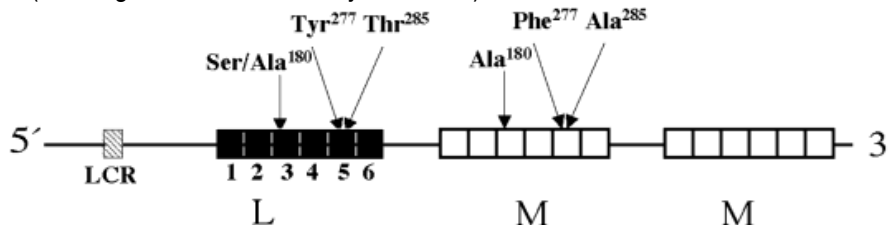
4.2. ipRGCs bevatten niet als enige fotoreceptoren melanopsine

Karakteristiek van ipRGCs is het tot expressie brengen van melanopsine. Melanopsine wordt gezien als de definitieve link met de capaciteit van ipRGCs om te reageren op licht d.m.v. fase verschuiving en pupil constrictie. (Hankins et al 2007) Uit onderzoek is gebleken dat ipRGCs niet de enige cellen zijn in de retina die melanopsine tot expressie. Zo is in de mens een nieuwe kegelcel gevonden die melanopsine tot expressie brengt maar geen andere opsinen. Melanopsine is birectief waardoor het kan functioneren als fotosensitieve opsinen die 11-cis-retinaldehyde als chromofoor kan gebruiken of als fotopigment kan werken d.m.v. fotoisomerase activiteit (Ouria Dkhissi-Benyahya et al. 2006).

5. Individuele verschillen in waarneming van kleur

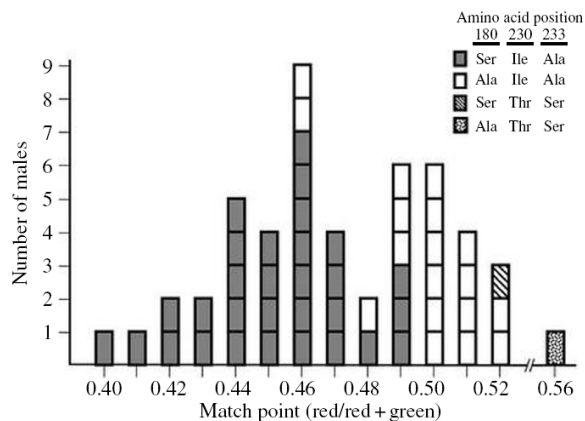
In verscheidene onderzoeken is naar voren gekomen dat er individuele verschillen zijn in de beleving van kleur (Bimler et al.2002; Bimler et al 2004;Thomas et al.1978). Echter was eerst niet bekend of dit door omgevingsfactoren kwam of door genetische factoren. Met behulp van tweelingstudies is naar voren gekomen dat kleur perceptie een genetisch component bevat. Er werd namelijk een significant verschil gevonden in kleurperceptie tussen monozygote tweeling, met een concordantie(rs) van 0.95 en de andere twee groepen, dizygote tweelingen (rs 0.72- 0.82) en non-twin siblings (rs 0.75) (Paramei et al. 2004).

Fundamenteel voor kleurperceptie is de synthese van elke klasse van fotopigmenten met zijn unieke maximale gevoeligheid voor een golflengte. Deze maximale gevoeligheid wordt bewerkstelligd door de eerder genoemde opsine activatie door fotonen waardoor retinal, een chromofoor, verandert van zijn inactieve vorm naar zijn actieve vorm. De verschillen in spectrale gevoeligheid is afhankelijk van de specifieke bindingen van aminozuren zijketens van de opsine aan de chromofoor. Deze specifieke bindingen komen voort uit de verschillende genen van de fotopigmenten. Zowel het gen van rode (OPN1LW) fotopigment (L-pigment) als het gen van het groene (OPN1MW) fotopigment (M-pigment) zijn gelokaliseerd op de q arm van het X-chromosoom. Het L-pigment gen wordt gevolgd door het M-pigment gen. Deze genen liggen achter een Locus Control Region (LCR). Dit is een regulatoire regio die genetische transcriptie reguleert door middel van het openen en hermoduleren van de chromatine structuur. Het L-pigment gen is in enkelvoud aanwezig en het M-pigment gen in enkelvoud of meervoud. Hoewel er individuen zijn met meervoudige M-pigment genen worden slechts de eerste twee genen tot expressie gebracht in de retina, waardoor slechts deze twee genen invloed kunnen uitoefenen op de kleur perceptie.(Yamaguchi et al.1997; Hayashi et al.).



Figuur 6 L-M fotopigment gen array op het X-chromosoom.
Deeb et al 2004

Het gen voor het blauwe (OPN1SW) fotopigment (S-fotopigment) is gelokaliseerd op chromosoom 7 (Nathans et al 1986 et al.; Oprian et al. 1991). Wat dit het enige kegel-fotopigment maakt dat niet gelokaliseerd is op het X-chromosoom. Dit zou kunnen betekenen dat verschillen in dit chromosoom wellicht niet gecorreleerd zijn met geslacht. Echter er zijn nog geen aanwijzingen dat dit gen over de populatie polymorfismen laat zien met een karakteristiek fenotype (Deeb et al 2005). Uit onderzoek is gebleken dat wanneer er een polymorfisme, hierbij een vervanging van een aminozuur voor een ander aminozuur, optreedt op de posities 180,197,277,285 en 308 er verandering ontstaat in de afstelling van het spectrale gevoeligheid. Polymorfismen in de bovengenoemde posities zorgen hierbij voor verschuiving van 7 nm,28 nm,7nm, 15 nm en 16 nm.



Figuur 7 Frequentie spreiding van overeenkomende kleurpunten Deeb et al 2005

Het verschil van 30 nm tussen het L-pigment en het M-pigment komt slechts tot stand door substituties op de posities 180, 277 en 285. (Mollen et al 1984. Deeb et al 2005; Asenjo et al. 1994). Deze bevindingen zijn onder ander tot stand gekomen door onderzoek van Deeb et al. In het onderzoek van Deeb et al. 2005 is er gekeken naar de verschillen in aminozuren op de posities 180, 230 en 233 van het M-pigment. De resultaten zijn weergegeven in figuur 7. In deze figuur zijn 50 mannen met normale kleur perceptie weergegeven met op de x-as match point. Dit matchpoint is vastgesteld door de mannen te vragen om een standaard geel licht overeen te laten komen met een mix van rood en groen licht. Hierbij is het zo dat de mannen die gevoeliger waren voor rood licht minder rood licht binnen de mix met groen licht gebruikte. In dit onderzoek kwam naar voren dat het polymorfisme waarbij Serine aanwezig is op positie 180 significant meer gevoelig is voor rood in vergelijking met Alanine op deze zelfde positie. Tevens werd gevonden dat individuen met polymorfismen op de posities 230 en 233 het minste gevoelig waren voor rood.

5.1 Man/vrouw

In paragraaf 6 worden de individuele verschillen behandeld die grotendeels een gevolg van genen gelokaliseerd op het X-chromosoom. Dit maakt het dat er tevens verschillen zijn tussen mannen en vrouwen. Er zijn seksuele dimorfismen in de genen die coderen voor de L-en M- fotopigmenten. De man heeft slechts één kopie van het X chromosoom waarop één L-fotopigmenten en één of meerdere M-fotopigment aanwezig zijn. Het L-fotopigment bestaat uit twee typen, een La-type met een Alanine op positie 180, dat aanwezig is bij 43.7% van de mannen en een Ls-typ met een Serine op positie 180 waarvan 56.3% aanwezig is bij de mannen (Pardo et al. 2007). De vrouw heeft twee kopieën van het X-chromosomen. Hierbij is het zo dat elke cel bij de embryonale ontwikkeling willekeurig één van de X-chromosomen op inactief stelt. Hierdoor kunnen vrouwen opgedeeld worden in drie subklassen dat zou kunnen zorgen voor een de gevonden intermediaire groep (Neitz et al. 1990). Heterozygote type vrouwen ($\pm 50\%$ van de populatie) waarbij beide soorten L-pigmenten in het netvlies aanwezig zijn en homozygote vrouwen ($\pm 50\%$ van de populatie) waarbij of het La-type tot expressie wordt gebracht of het Ls-type. De vrouwen die heterozygoot zijn en dus twee soorten L-pigmenten hebben zouden hierdoor vier typen van kegelcellen kunnen hebben, namelijk blauw, groen, en twee spectraal verschillende rode kegelcellen. Hoewel er wel bewijs is voor een verhoogde capaciteit van heterozygote vrouwen in het onderscheiden van kleuren ten opzichte van homozygote vrouwen, is volledige tetrachromaciteit nog niet bewezen. Dit zou wellicht kunnen komen doordat het menselijke visuele systeem misschien niet plastisch genoeg is om een volledige tetrachromatische kleur perceptie te hebben (Deeb et al 2005). De verschillen in de aanwezigheid van genen hebben als gevolg dat er verschillen zijn in de expressie tussen mannen en vrouwen (Pardo et al. 2007). Deze verschillen in expressie hebben een verschil in binding van opsine aan retinal als gevolg. Waardoor verschillen ontstaan in maximale gevoeligheid van de fotoreceptoren (Deeb et al. 2005).

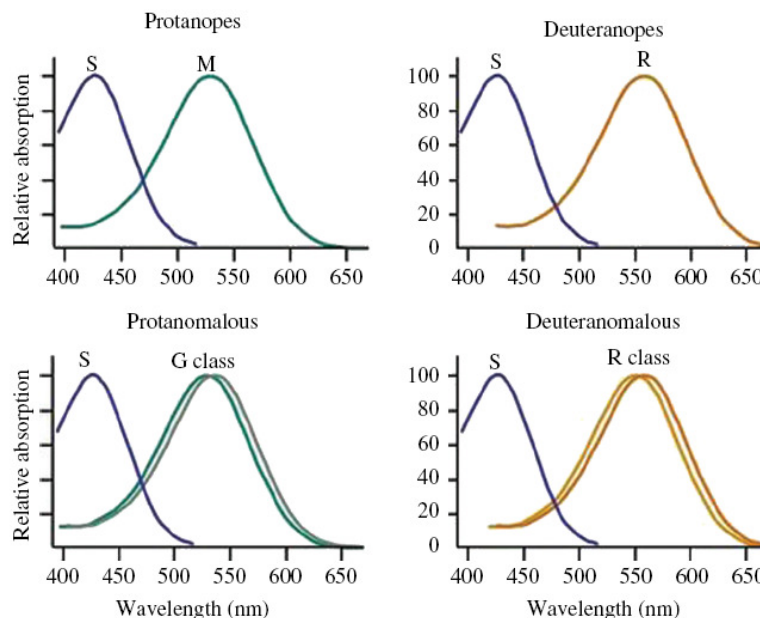
5.2 Disfuncties/Kleurenblindheid

Naast de natuurlijk voorkomende individuele verschillen worden er tevens disfuncties gevonden in de staafcellen en de kegelcellen waardoor er o.a. armoede in kleurperceptie kan ontstaan.

Kleurenblindheid of daltonisme is het niet of niet goed kunnen waarnemen van kleuren en is grotendeels een erfelijk aandoening maar kan ook secundair verworven worden door ontwikkelingsstoornissen (Bear et al. 2006).

Er zijn verschillende verdelingen te maken tussen soorten kleurenblindheid. Zo wordt er onderscheid gemaakt tussen achromaten, monochromaten, dichromaten en anomalous trichromaten. Achromaten (ACHR) zijn de groep individuen waarbij de staafcellen de enige functionele fotoreceptoren zijn (Moskowitz et al 2009). Monochromaten hebben slechts één functioneel fotopigment en vaak alleen het S-fotopigment omdat deze als enige niet op het X-chromosoom ligt. Deze blauwe kegelcel

monochromaten kunnen onder ander ontstaan doordat door een deletie van de LCR waardoor er geen afschrijving plaatsvindt van de M-pigment en de L-pigment genen. Deze individuen kunnen geen kleur waarnemen gedurende daglicht. (Deeb et al.2005) Dichromaten zijn mensen die slechts twee fotoreceptoren hebben waardoor de ontbrekende fotoreceptor zorgt voor disfunctie voor de kleur waarvoor de fotoreceptor maximaal gevoelig voor is. Deze groep is tevens onder te verdelen in drie klassen van individuen die deuteranop, protanop en tritanop zijn. Bij een deuteranope individu is er een verlies in functie van de M-fotoreceptor. Bij een protanope individu een verlies in functie van de L-fotoreceptor en bij een tritanope individu bij de S-fotoreceptor (Jagla et al. 2001). Anomalous trichromaten hebben in tegenstelling wel alle drie de fotoreceptoren alleen zijn deze abnormaal gevoelig. Ook deze groep is te verdelen in drie klassen. Hierbij is het zo dat een storing in het waarnemen van de kleur protanomalie heet en van de kleur groen deuteromalie. Wat minder vaak voorkomt is dat de S-cellen aangedaan zijn. De individuen met deze afwijkingen missen de blauw en gele sensorische mechanismen terwijl de rode en groene nog wel aanwezig zijn. Het niet kunnen zien van de kleur blauw doordat het gen wat codeert voor het blauwe pigment is aangedaan wordt tritanopie genoemd. Andere vormen van kleurenblindheid hebben geen disfunctie in de kegelcellen maar hebben andere oorzaken zoals het niet goed functioneren van de oogzenuw of de lens in het oog dat zorgt voor een kleurenzeem. Deze vormen van kleurenblindheid laten we buiten beschouwing in deze scriptie.



Figuur 8 Absorptie spectrum van de kegelcellen van mannen met kleurenblindheid. De retina van een protanop heeft slecht blauwe en groene kegelcellen en deuteranopen slecht blauwe en rode kegelcellen. Mannen met protanomalie hebben blauwe, groene en groenachtige (G klasse) kegelcellen. En tenslotte hebben Deuteranomalie slechts blauwe, rode en roodachtige (R klasse) kegelcellen. (Deeb et al. 2005)

De meest voorkomende disfunctie is het niet goed onderscheidt kunnen maken tussen de kleuren groen en rood, groen-rood kleurenblindheid. Deze vorm van kleuren blindheid komt meer voor bij mannen dan vrouwen en dan wel in de ratio 1 op de 20 mannen in de Verenigde Staten (Neitz et al.1996). Dit fenotype kan verschillende genotypen als oorsprong hebben. Hierdoor komt waarschijnlijk het fenotype van de visus niet overeen met de eventuele fenotypen die wellicht naar voren komen bij de niet-visuele effecten van licht..

7. Discussie

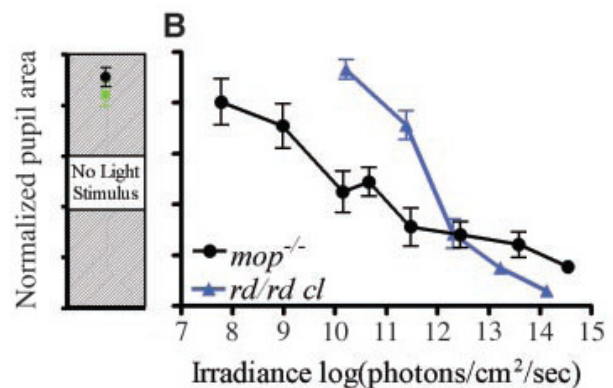
Deze scriptie is geschreven met het doel om inzicht te krijgen in de eventuele effecten van dysfuncties in de kegelcellen en staafcellen op de visuele en niet-visuele processe. Dit werd gedaan door middel van het uitwerken van de vraag; Hoe is de perceptie van licht in het oog, en hoe is de interactie van niet-beeldvormende en beeldvormende fotoreceptoren in het oog?

Deze vraag ontstond vanuit het humane onderzoek waar men zich afvroeg of het ook essentieel is om te kijken naar disfuncties in kleurwaarneming wanneer er gekeken wordt naar de niet-visuele processen van licht. Door verscheidene onderdelen te belichten uit het onderzoeksgebied van licht waarneming is de vraag na mijn mening te beantwoorden met ja. In deze scriptie komt namelijk naar voren dat de staafcellen en de kegelcellen interacteren met de ipRGCs. Deze interactie zal door een disfunctie in kleurwaarneming verstoort kunnen zijn doordat de gevoeligheidsmaxima verschuiven of niet aanwezig zijn. En zoals in eerder besproken onderzoek (Sakamoto et al. 2004) naar voren kwam is bij degeneratie van de klassieke fotoreceptoren een significante verlaging in het niveau van melanopsine mRNA en eiwit waar te nemen. Zo kwam uit deze data naar voren dat de klassieke fotoreceptoren nodig waren voor de expressie van melanopsine

(Sakamoto et al. 2004). Volgens dit experiment waren de klassieke fotoreceptoren essentieel voor de niet-visuele effecten van licht in ratten. Echter enkele andere experimenten uit de voorgaande jaren hebben tegengestelde resultaten gevonden. Zo hebben experimenten naar muizen laten zien dat de staafcellen en kegelcellen helemaal niet essentieel zijn voor het synchroniseren aan licht (Lucas et al. 1999). Deze tegengestelde resultaten zijn de verklaren aan de hand van een studie van Lucas et al. (2003). Waarbij een vergelijking is gemaakt tussen de *rd/rd cl* muizen, deze muizen hebben geen functionele staaf- en kegelcellen, en *mop^{-/-}* muizen waarbij het melanopsine gen is vervangen door een tau-LacZ coderende

sequentie, in pupilreflex. In figuur 9 is te zien dat de muizen zonder de staaf- en kegelcellen, *rd/rd cl* muizen, een hogere intensiteit nodig hebben om een pupil respons te geven. Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden dat de staaf- en kegelcellen belangrijk zijn voor lichtcondities met lage intensiteiten en de ipRGCs juist bij hogere intensiteiten belangrijk zijn.

In onderzoek naar de humane retina kwam naar voren dat de verschillende kegelcellen elk een eigen invloed hebben op de ipRGCs. Zo kwam naar voren dat S-kegelcellen een inhiberende input op ipRGCs hebben en de M-kegelcellen en L-kegelcellen een exciterende input. Dit zou betekenen dat wanneer er disfuncties zijn de M-kegelcellen en L-kegelcellen er een vermindering in exciterende input is met daarbij een verlaging in ipRGCs activiteit. In het omgekeerde zal dit dan gelden voor de S-kegelcellen (Dacey et al. 2005). Waarschijnlijk is de mogelijkheid tot het synchroniseren van een persoon met een disfunctie van de klassieke fotoreceptoren niet aangetast omdat het zonlicht bestaat uit polychromatisch licht. Dit werd enkele jaren geleden aangetoond door Ruberg et al (1996). In dit onderzoek werd gevonden dat mensen die kleurenblind zijn geen significant verschil laten zien in melatonine onderdrukking na blootstelling aan wit licht met een grote band breedte en een matige band breedte van 120 nm. In dit onderzoek deden protanopische, deuteranopische en anomalous trichromatische personen mee. Bij de eerste twee groepen is er of een verlies in het M-pigment of een verlies in het L-pigment. De andere twee fotopigmenten functioneren nog wel. De niet gevonden verschillen tussen de kleurenblinden en de controle groep in melatonine onderdrukking zouden verklaard kunnen worden



Figuur 9 Stralingssterkte-respons curve voor pupil reflex. De minimale pupil respons behaalt na een 1 min durende blootstelling aan monochromatisch licht van 480 nm is uitgezet tegenover de stralingsterkte. (Lucas et al 2003)

doordat de andere exciterende input van of het M-pigment of L-pigment nog wel aanwezig is. Doordat de pieken van de M- en L- pigmenten slechts 30 nm uiteen liggen wordt de andere als nog geactiveerd doordat in dit onderzoek gebruik is gemaakt van wit licht met een grote en matige bandbreedte. Bij anomalous trichromatische kleurenblinden zijn alle fotoreceptoren nog wel aanwezig echter zijn deze abnormaal gevoelig. Ook bij deze groep zullen de exciterende en inhiberende inputten van de staafcellen nog steeds aanwezig zijn omdat er gebruik gemaakt wordt van wit licht met een grote en matige bandbreedte.

Echter in de nieuwe ontwikkelingen op het gebied van verlichting wordt er vaak gebruik gemaakt van polychromatisch licht met specifieke pieken van golflengten binnen het spectrum, zie voor voorbeeld figuur 1 p.4. Wanneer het individu een andere maximale gevoeligheid heeft door bijvoorbeeld de oorzaken genoemd in paragraaf 6 zal de piek in golflengte mogelijk buiten het maximale gevoeligheidsspectrum kunnen vallen waardoor de positieve effecten, die bereikt willen worden met bijv. dynamische verlichting, uitblijven. Hoewel dit op dit moment slechts een hypothese is, is het naar mijn mening een goed uitgangspunt voor verder onderzoek om in de toekomst optimaal gebruik te kunnen maken van de wellicht positieve effecten van de eigenschappen van licht.

8. Referenties

- Ames JB**, Levay K, Wingard JN, Lusin JD, Slepak VZ. (2006) Structural basis for calcium-induced inhibition of rhodopsin kinase by recoverin *J Biol Chem.* 2006 Dec 1;281(48):37237-45. Epub 2006 Oct 4.
- Asenjo AB**, Rim J, Oprian DD. (1994) Molecular determinants of human red/green color discrimination. *Neuron*: 12:1131–1138.
- Bear MF**, Connors BW, Paradiso MA (2006) Neuroscience exploring the brain third edition Hoofdstuk 9 p 278-307
- Berson DM** (2007) Phototransduction in ganglion-cell photoreceptor *Eur J Physiol* 454:849-855
- Berson DM**, Dunn FA, Takao M (2002) Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock *Science* 295:1070-1073
- Bimler, D.L.**, Kirkland, J. (2002) Sex differences in color vision and the salience of color space axes. *Journal of Vision* 2, 28a.
- Bimler, D.L.**, Kirkland, J, Jameson, K.A. (2004). Quantifying variations in personal color spaces: Are there sex differences in color vision? *Color Research and Application* 29, 128–134. Schwartz, Wayne L. Hubbell
- Brown RL**, Robinson PR (2004) Melanopsin—Shedding Light on the Elusive Circadian Photopigment *Chronobiology International* Vol. 21, No. 2, pp. 189–204, 2004
- Cajochen C** (2007) Alerting effects of light, *Sleep Medicine Reviews* 11, 453-464
- Campbell NA**, Reece JB (2005) Biology seventh edition hoofdstuk 48 p1059-1063
- Dacey DM**, Liao HW, Peterson BB, et al. (2005) Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature.*;433:749–754
- Deeb SS** (2004) Molecular genetics of colour-vision deficiencies *Visual Neuroscience* (2004), 21, 191–196.
- Deeb SS** (2005) The molecular basis of variation in human color vision *Clin Genet* 2005;67:369-377
- Dizhoor AM**, Lowe DG, Olshevskaya EV, Laura RP, Hurley JB (1994) The human photoreceptor membrane guanylyl cyclase, RetGC, is present in outer segments and is regulated by calcium and a soluble activator. *Neuron* 12:1345–1352
- Dkhissi-Benyahya O**, Rieux C, Hut RA, Cooper HM (2006) Immunohistochemical Evidence of a Melanopsin Cone in Human Retina *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, April 2006, Vol. 47, No. 4
- Foster, R.G.** et al. (1991) Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *J. Comp. Physiol.* A 169, 39–50
- .Fu, Y.**, Yau, K.W., (2007) Phototransduction in mouse rods and cones. *Pflugers Arch.* 454,805–819
- Gorczyca WA**, Sokal I. GCAPs: (2002) Ca²⁺-sensitive regulators of retGC *Adv Exp Med Biol.* 2002;514: 319-32..
- Graham DM**, Wong KY, Shapiro P, Frederick C, Pattabiraman K, Berson DM. (2008) Melanopsin ganglion cells use a membrane-associated rhabdomic phototransduction cascade *J Neurophysiol.* 2008 May;99(5):2522-32. Epub 2008 Feb 27
- Hannibal J**, Brabet P, Fahrenkrug J (2008) Mice lacking the PACAP type I receptor have impaired photic entrainment and negative masking *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R2050–R2058
- Hayashi T**, Yamaguchi T, Kitaharak T, Sharpe LT, Jagle H, Motulsky AG, Deeb SS (2001) The importance of gene order in expression of the red and green visual pigment genes and in color vision *Color Res Appl.* 26,79-83
- Jagla WM**, Jäggle H, Hayashi T, Sharpe LT, Deeb SS. (2002) The molecular basis of dichromatic color vision in males with multiple red and green visual pigment genes. *Hum Mol Genet.* 2002 Jan 1;11(1):23-32.
- Kawamura S**, Tachibana S (2008) Rod and cone photoreceptors: Molecular basis of the difference in their physiology *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 150 (2008) 369–377
- Kawasaki A**, Kardon RH Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells (2007) *J Neuro-Ophthalmol*, Vol 27, No. 3
- Leskov, I.B.**, Klenchin, V.A., Handy, J.W., Whitlock, G.G., Govardovskii, V.I., Bownds, M.D. Lamb, T.D., Pugh Jr., E.N., Arshavsky, V.Y., (2000) The gain of rod phototransduction: reconciliation of biochemical and electrophysiological measurements. *Neuron* 27,525–537
- Lucas, R.J.** et al. (1999) Regulation of the mammalian pineal by non rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science* 284, , 505–507..
- Mills PR**, Tomkins SC, Schlangen LJM. (2007) The effect of high correlated colour temperature office lighting on employee wellbeing and work performance. *J Circadian Rhythms.* 2007;5:2
- Mollon JD**, Bowmaker JK, Jacobs GH. (1984) Variations of colour vision in a New World primate can be explained by polymorphism of retinal photopigments. *Proc R Soc Lond BBiol Sci:* 222: 373–399.
- Moskowitz A**, Hansen RM, Akula JD, Eklund SE, Fulton Rod and Rod-Driven Function in Achromatopsia and Blue Cone Monochromatism *AB Investigative Ophthalmology & Visual Science*, February 2009, Vol. 50, No. 2
- Mure LS**, Rieux C, Hattar S, Cooper HM (2007) Melanopsin-Dependent Nonvisual Responses: Evidence for Photopigment Bistability *In Vivo J Biol Rhythms* 22; 411

- Nathans J**, Thomas D, Hogness DS. (1986) Molecular genetics of human color vision: The genes encoding blue, green, and red pigments. *Science*;232:193–202.
- Neitz J**, Jacobs GH. (1990), Polymorphism in normal human color vision *Vision RCS*. Vol. 30. No. 4. pp. 621-636
- Neitz J**, Neitz M, Kainz PM (1996) Visual Pigment Gene Structure and the Severity of Color Vision Defects *Science, New Series*, Vol. 274, No. 5288 pp. 801-804
- Oprian DD**, Asenjo AB, Lee N, Pelletier SL. (1991) Design, chemical synthesis, and expression of genes for the three human color vision pigments. *Biochemistry*. Dec 3;30(48):11367-72.
- Revell VL**, Skene DJ (2007) Light-induced melatonin suppression in humans with polychromatic and monochromatic light *Chronobiology International* 24(6) 1125-1137
- Ruberg FL**, Skene DJ, Hanifin JP, Rollag MD, English J, Arendt J, Brainard GC.(1996) Melatonin regulation in humans with color vision deficiencies. *Clin Endocrinol Metab*. 1996 Aug;81(8):2980-5.
- Paramei GV**, Bimler DL, Mislavskaja NO. (2004) Colour perception in twins: individual variation beyond common genetic inheritance. *Clin Exp Optom*. 2004 Jul;87(4-5):305-12.
- Panda S**, Provencio I, Tu DC, Pires SS, Rollag MD, Castrucci AM, Pletcher MT, Sato TK, Wiltshire T, Andahazy M, Kay SA, Van Gelder RN, Hogenesch JB (2003) Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. 1: *Science*. 2003 Jul 25;301(5632):525-7. Epub 2003 Jun 26
- Pardo P.J.**, Perez, A.L. , Suero, M.I. (2007) An example of sex-linked color vision differences. *Color Research & Application* 32, 433–439.
- Sakamoto K** Liu C, Kasamatsu M, Pozdeyev NV, Iuvone PM, Tosini G (2005) Dopamine regulates melanopsin mRNA expression in intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Eur J Neurosci*. 2005 Dec;22(12):3129-36.
- Sakamoto, K.**, Liu, C. & Tosini, G. (2004) Classical photoreceptors regulate melanopsin mRNA levels in the rat retina. *J. Neurosci.*, 24, 9693–9697.
- Salinas-Navarro M**, Mayor-Torroglosa S, Jiménez-López M, Avilés-Trigueros M, Holmes TM, Lund RD, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. *Vision (2009)* A computerized analysis of the entire retinal ganglion cell population and its spatial distribution in adult rats. *Res. Jan*;49(1):115-26.
- Schmidt TM**, Kofuji P.J (2009) Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Neurosci*. 2009 Jan 14;29(2):476-82
- Schmidt TM**, Taniguchi K, Kofuji P (2008) Intrinsic and Extrinsic Light Responses in Melanopsin-Expressing Ganglion Cells During Mouse Development *J Neurophysiol* 100: 371–384,
- Shichida Y**, Imai H. (1998) Visual pigment: G-protein-coupled receptor for light signals. *Cell Mol Life Sci*. Dec;54(12):1299-315
- Tachibanaki, S.**, Tsushima, S., Kawamura, S., (2001) Low amplification and fast visual pigment phosphorylation as mechanisms characterizing cone photoresponses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 14044–14049.
- Tachibanaki, S.**, Shimauchi-Matsukawa, Y., Arinobu, D., Kawamura, S., (2007). Molecular mechanisms characterizing cone photoresponses. *Photochem. Photobiol.* 83,19–26.
- Thapan K**, Arendt J, Skene DJ. (2001). An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. *J. Physiol.* 535:261–267.
- Thomas, L.L.**, Curtis, A.T. , Bolton, R. (1978). Sex-differences in elicited color lexicon size. *Perceptual and Motor Skills* 47, 77–78.
- Thompson S**, Foster RG, Stone EM, Sheffield VC, Mrosovsky N (2008) Classical and melanopsin photoreception in irradiance detection: negative masking of locomotor activity by light *European Journal of Neuroscience*, Vol. 27, pp. 1973–1979
- Thue W** (2008), A moving story of receptors , *Nature* 455, 473-474 25 September
- Tri H. Do M**, Kang SH, Xue T, Zhong H, Liao HW, Bergles DE, Yau KW (2009) *Nature* 457
- Viola AU**, James LM, Schlangen LJM, Dijk DJ (2008) Blue-enriched white light in the workplace improves self-reported alertness, performance and sleep quality; *Scand J Work Environ Health* 2008;34(4):297–306
- Yamaguchi T**, Motulsky AG, Deeb SS. Visual pigment gene structure and expression in human retinae. *Hum Mol Genet*. 1997 Jul;6(7):981-90.
- Yee, R.**, Liebman, P.A., (1978). Light-activated phosphodiesterase of the rod outer segment. Kinetics and parameters of activation and deactivation. *J. Biol. Chem.* 253, 8902–8909.

Websites

- Bureau International des Poids et Mesures (1) http://www.bipm.org/en/si/base_units/ bezocht op 15-04-2009
- Bureau International des Poids et Mesures (2); http://www.bipm.org/en/si/si_brochure/chapter2/2-2/table3.html bezocht op 15-04-2009